FOR THE PEOPLE
FOR EDVCATION
FOR SCIENCE

LIBRARY
OF
THE AMERICAN MUSEUM
OF
NATURAL HISTORY

Bound at
A.M.N.H.
1925

LIBRARY
OF THE
AMERICAN MUSEUM
OF
NATURAL HISTORY

Ano 1922

Tomo XV

Faciculo I

59.06(81)

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Numero Commemorativo

DO

Centenario da Independencia do Brasil

Rio de Janeiro - Manguinhos

AMERICAN MUSEUM
OF NATURAL HISTORY

25-101842-Nov 20

Sumario:

I Traços de Oswaldo Cruz. 5
II Noticia historica "Sobre o preparo da vaccina anti-pestosa por OSWALDO CRUZ, no Instituto de Manguinhos, pelo Dr. FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS. 58
III Descoberta do Tripanozoma Cruzi e verificação da Tripanozomiase Americana. RETROSPECTO HISTORICO pelo Dr. CARLOS CHAGAS, Director do Instituto Oswaldo Cruz. 67
IV Sôro contra o epithelioma ou diphtheria das aves pelo Dr. H. MARQUES LISBOA. 77
V Contribuição ao estudo das Gregarinas por CESAR PINTO, D. M. (Com as estampas 1—6.) . . 84
VI Sobre as relações entre precipitinas e precipitinogeno pelo Dr. J. DA COSTA CRUZ. 109
VII Sobre uma amoeba do genero VAHLCAMPFIA, encontrada no homem por CESAR PINTO (Com a estampa 7.) 122
VIII Notas entomologicas II: Estudo sobre a anatomia do genero Triatoma. Apparelho salivar, pelo Dr. ANTONIO LUIS DE B. BARRETO, Adj. de Assistente do Instituto Oswaldo Cruz (Com as estampas 8—12). 127
IX Um cazo de mola, complicado de corio-carcinoma, pelo Dr. OSWINO ALVARES PENNA (Com as estampas 13—16.) (Secção de Anatomia Patolojica do Instituto Oswaldo Cruz.) 131
X Alterações histopathologicas da medulla ossea na immunisação para obtenção de agglutininas por C. MAGARINOS TORRES. I—Introducção e historico. II—Material e methodos de pesquiza. III—Estudo histopathologico da medulla ossea. IV—Conclusões. (Com as estampas 17—22.) 148
XI Sobre a perda da acido-resistencia e a desagregação granular nos bacillos de KOCH em culturas antigas, pelo Dr. A. FONTES. (Chefe de serviço). 181
XII Estudos sobre protozoarios do mar pelos Drs. J. GOMES DE FARIA, A. M. DA CUNHA e CESAR PINTO (Est. 23—25.) 186
XIII A Reacção de Wassermann na Leishmaniose pelo Dr. ANTONIO EUGENIO DE ARÊA LEÃO. . . 209
XIV Contribuições para o conhecimento da fauna helmintolojica brazileira. XVII. Gorgoderidae brasileiras, por LAURO TRAVASSOS. (Com as estampas 26—30.) 220
XV Elaps Ezequieli e Rhinostoma bimaculatum, cobras novas do Estado de Minas Geraes, pelos Drs. ADOLPHO LUTZ (do Instituto Oswaldo Cruz) e OSWALDO DE MELLO (da filial de Bello Horizonte). (Com a estampa 31). 235
XVI Estudos sobre os Blastocystis pelo Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO (Chefe de serviço). (Com as estampas 32—33.) 240
XVII Syphilis das glandulas supra-renaes, por C. BURLE DE FIGUEIREDO (Com as estampas 34—39.) . 251

Table des Matières:—Contents:—Inhalt:

I The Discovery of Trypanosoma Cruzi and of American Trypanosomiasis. Historic retrospect by Dr. CARLOS CHAGAS (Director of the Instituto Oswaldo Cruz.) 3
II Serum against the Epithelioma or Diphtheria of Birds by Dr. H. MARQUES LISBOA. 12
III Beitrag zur Kenntnis der Gregarinen von Dr. med. CESAR PINTO (Taf. 1—6). 19
IV On the relation of precipitins to precipitinogen by Dr. J. COSTA CRUZ 34
V Uber eine Amöbe der Gattung VAHLCAMPFIA bein Menschen, von CESAR PINTO (Tafel. 7). . . . 47
VI Entomological notes II. On the anatomy of the genus Triatoma. Salivary apparatus, by Dr. ANTONIO LUIS DE B. BARRETO, Auxil. Assistant of the Instituto Oswaldo Cruz (Plates 8—12.) 50
VII Un Cas de Môle Compliqué de Chorio-Carcinome par le Dr. OSWINO ALVARES PENNA. (Avec les Planches 13—16.) Section d'Anatomie Pathologique de l'Institut Oswaldo Cruz 53
VIII On the histopathologic lesions of the bone-marrow in immunisation for agglutinin production, by Dr. C. MAGARINOS TORRES. I—Introduction and History. II—Subjects and methods of research. III—Histopathology of the bone-marrow. IV—Conclusions. (With plates 17—22.) . 69
IX On the loss of acid-fastness and granular desaggregation in Bacillus tuberculosis of old cultures by Dr. A. FONTES, Head of Department. 97
X Studien ueber Protozoen des Meeres, von Drs. GOMES DE FARIA, A. M. DA CUNHA und CESAR PINTO (Taf. 23—25.). 101
XI The Wassermann Test in Leishmaniosis by Dr. ANTONIO EUGENIO DE ARÊA LEÃO. 116
XII Contributions à l'étude de la faune helminthologique du Brésil. XVII. Gorgoderidae brésiliennes, par le Dr. LAURO TRAVASSOS (avec les planches 26—30). 125
XIII Elaps Ezequieli and Rhinostoma bimaculatum, new snakes from the State of Minas Geraes by ADOLPHO LUTZ, M. D. and OSWALDO DE MELLO, M. D. (Instituto Oswaldo Cruz in Rio and Branch in Bello Horizonte). 138
XIV Études sur les Blastocystis par le Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, Chef de service. 143
XV Syphilis in the adrenals by Dr. C. BURLE DE FIGUEIREDO (With plates 34—39). 152

AVISO As «MEMORIAS» serão publicadas em fasciculos, que não apparecerão em datas fixas. No minimo haverá um volume por anno.

Toda correspondencia, relativa ás «MEMORIAS», deverá ser dirigida ao «**Director do Instituto Oswaldo Cruz – Caixa postal 926 – Manguinhos – Rio de Janeiro**». Endereço telegraphicos «**Manguinhos**».

Os artigos da primeira parte vem traduzidos para outras linguas na segunda parte da «MEMORIAS».

AVIS Les «MÉMOIRES» seront publiés par fascicules sans date fixe, formant, au moins, un volume par année.

Toute correspondance doit être adressée au «**Directeur de l'Institut Oswaldo Cruz—Caixa postal 926—Manguinhos—Rio de Janeiro**». Adresse télégraphique «**Manguinhos**».

La deuxième partie contient la traduction des articles de la première partie des «MEMOIRES».

Dr. Ezequiel Caetano Dias

Chefe de serviço do Instituto Oswaldo Cruz.

† 22 de Outubro de 1922.

Ezequiel Dias

Quando, no desvelo de uma saudade que não finda, regressamos aos tempos primitivos de Manguinhos, e procuramos relembrar naquella epocha as melhores alegrias de um convivio cordial e afortunado, desde logo nos acode, entre as recordações de amizade que mais nos fallam á alma e mais nos edificam no apreço á abnegação e á lealdade, o nome querido de EZEQUIEL DIAS. Foi dos primeiros que alli chegaram, e á obra scientifica de OSWALDO CRUZ, annos prolongados de uma actuação proficua, dedicou todas as energias de seu espirito, todo o ardor e toda a perserverança de sua fé inabalavel.

Em Manguinhos realizara sua aprendizagem experimental e tambem alli completára sua individualisação moral. E do Mestre tanto valeram ao discipulo, no aperfeiçoamento da educação biologica, as sabias doutrinas, quanto aproveitaram ao amigo os raros predicados de sentimento, que o integraram nas mais lidimas virtudes humanas. Dahi, principalmente, o ter sido EZEQUIEL, acima de tudo, um simples e um bom, porque nas doçuras infinitas de uma grande amizade, nos encantos de uma convivencia bemfazeja, lucrou de OSWALDO CRUZ attributos de coração que constituiram a força maior de sua individualidade.

Tornou-se, bem depressa, um dos nossos melhores experimentadores, pelas excellencias de uma technica irreprehensivel, pelo acerto de um raciocinio atilado. E de seu labor intenso lucrámos producções de alta valia, que illustram as paginas da litteratura medica nacional e vieram esclarecer relevantes problemas de nossa pathologia. Assim, nas conclusões definitivas de suas pesquizas hematologicas encontra-se a derrocada da falsa anemia tropical, erro em que se illudia o entendimento de quantos dissertavam sobre a pathologia dos climas quentes, em que se baseavam as anachronicas doutrinas que, em suas consequencias physio-pathologicas, malsinavam o clima de nossa terra. Outras publicações de irrecusavel valor devemos a sua actividade, e nas **Memorias do Instituto** Oswaldo Cruz encontramos bem evidenciado seu esforço e alta clarividencia scientifica.

Possuia tambem EZEQUIEL DIAS notavel capacidade organizadora, apro-

veitada em iniciativas fecundas, que levaram a outras regiões do paiz os beneficios da escola de Manguinhos. No Maranhão installou completo laboratorio de pesquizas e orientou, pelos ensinamentos experimentaes, os serviços de hygiene publica. E em Minas Geraes organizou a Filial de Bello Horizonte, instituto modelar em que se perpetuam o zelo e as raras aptidões do jovem experimentador, em que se concretizam suas melhores aspirações de sciencia. Foi essa a grande opportunidade de trabalho offerecida a EZEQUIEL, que a soube utilizar no esclarecimento de importantes aspectos da nozologia regional, no valioso concurso technico á administração sanitaria do Estado, e em outras iniciativas que muito facilitaram a realização de um vasto programma de aperfeiçoamento medico na capital mineira. Assumptos de excepcional interesse pratico foram depressa considerados pelo novo Instituto, e não tardou que, em beneficios incalculaveis, se prestigiasse sua actividade technica.

O combate ao ophidismo, realizado num accordo acertado com VITAL BRASIL, mereceu o maior esforço de EZEQUIEL DIAS, que na persistencia de uma campanha intelligente conseguiu educar as populações ruraes e dellas banir abusões, nas quaes naufragavam as tentativas de propaganda da sôrotherapia especifica. Foram assim demolidas as benzeduras e mézinhas, e os accidentes ophidicos, agora attendidos pelo methodo scientifico, deixaram de constituir factor de elevada lethalidade. E, como este, outros aspectos da medicina pratica muito lucraram dos trabalhos e pesquizas executados pela Filial de Manguinhos. Ahi onde se faziam indicados processos biologicos de diagnostico ou de cura, não falhava o concurso da experimentação medica, organizada em moldes adiantados e executada com as exigencias da technica moderna. Nem se limitára a trabalhos de applicação immediata o programma de EZEQUIEL DIAS. A seu lado, num labor de alta sciencia, actuavam discipulos esforçados, cujas producções originaes documentam a proficuidade da nova escola e consagram o renome de um grande Mestre. O Instituto de Bello Horizonte tornou-se, desl'arte, um centro de aprendizado experimental, e foi sem duvida o inicio de uma evolução scientifica e de um avanço em medicina pratica, que nobilitam a mentalidade e a iniciativa do povo mineiro.

Na Escola medica de Minas Geraes, hoje prestigiada no consenso unanime da opinião culta do paiz, creou o ensino da bacteriologia, e tanto pelas excellencias do methodo didactico, quanto pela larga experiencia no assumpto, bem depressa adquiriu preeminencia e tornou-se dos melhores esteios da nova Faculdade, e nella foi elemento de maxima valia.

O infortunio de pertinaz doença, que o attingiu em plena mocidade, assignala de verdadeiro stoicismo a vida de trabalho do grande discipulo de OSWALDO CRUZ. Houve elle que empenhar esforços ingentes, nos quaes se foi aos poucos esvaindo a propria vitalidade, para levar de vencida soffrimentos ininterruptos, que só o não afastaram da lida porque nelle perdurava a resistencia de nobres ideaes. Nem um dia esmoreceu, e na adversidade de longos annos soube caminhar sereno, bemdizendo o destino, de animo forte e de perspectivas sempre renovadas. É que, acima de tudo, nelle actuava e exemplo de uma outra vida, que lhe foi o maior symbolo de heroismo, e cujas normas de abnegação e de verdade soube elle adoptar e praticar. De OSWALDO CRUZ, na intimidade de uma affeicção que lhe foi o maior dos bens, adquiriu EZEQUIEL DIAS as caracteristicas moraes que o nobilitaram. E foi por isso que ao Mestre consagrou profunda idolatria, bem exteriorizada na

directriz de sua carreira profissional, e culminada nos dias derradeiros de sua vida, quando no fundo de um leito, esgottada a capacidade physica e bem se apercebendo do *fim* que vinha perto, voltou para OSWALDO CRUZ seu pensamento e traçou-lhe o perfil magestoso, em paginas inconfundiveis de amor e de gratidão.

Foi o ultimo gesto magnifico do nosso grande companheiro, e nelle se consagram as bellezas de sua alma, os encantos de seu coração.

Na vida intima de EZEQUIEL DIAS nobilita-se ainda mais sua memoria. Filho e irmão amantissimo, foi o ídolo do lar paterno e o conforto de dois velhinhos simples e austeros, que nelle tiveram a maior compensação de toda uma existencia de labor e de virtude. E na Esposa carinhosa e compassiva, na santa creatura que lhe partilhou os revezes e as alegrias, encontrou elle o maior amparo moral e a resignação de deixar na vida entes queridos, que della aprenderão a cultivar-lhe a memoria e a imitar-lhe as normas de honra.

O Instituto Oswaldo Cruz, num culto de saudade e reconhecimento, vem curvar-se ante o tumulo de um dos pioneiros da medicina experimental no Brazil, de um de seus trabalhadores mais dedicados.

C. C.

Ezequiel Dias

Com a morte de EZEQUIEL DIAS desapparece da casa de OSWALDO um dos mais sinceros e ardentes trabalhadores.

Sua obra de pesquizador infatigavel guarda uma admiravel harmonia e unidade.

Dir-se-ia mesmo que reflecte na sciencia mais alta o alto e dedicado espirito que elle foi.

Tendo iniciado sua carreira scientifica com trabalhos sobre o sangue, para esse inesgotavel manancial de estudos, teve, quasi sempre, voltadas suas vistas.

Nunca tambem como a este modesto e valoroso pesquizador poder-se-ia applicar o dito de BUFFON.

Seus trabalhos expressam mais do que os de qualquer o homem e o scientista que elle foi.

A phrase curta, polida, incisiva, trabalhada, revelava o habil manejador do vernaculo.

Nos entre-meios dos periodos harmoniosos entreviam-se os desvaneios do poeta, desgarrado na prosa, e os anceios do artista pelo ideal da perfeição.

Surprehendido pela molestia, quando se encontrava em honrosa commissão no Estado do Maranhão e da qual, mais tarde, foi victima, teve que abandonar um magnifico futuro e se recolher ao Estado de Minas.

Conformou-se apparentemente com a desdita. Si é verdade, como diz RENAN, que tudo na terra é «symbolo e sonho», é por elles, muita vez, que podemos supportar a dôr de certos infortunios.

Sonhando o seu ideal de sciencia, soffreu EZEQUIEL, com estranho estoicismo, o supplicio de ver cerceadas pela molestia todas as suas grandes aspirações de trabalhador invulgar.

Mesmo quando a morte já adejava sobre seu leito com o fremito de sua aza invisivel, só se lhe ouviam dos labios palavras de resignação, de fé e de esperança na força do trabalho e no ideal da sciencia. Deixou apezar de tudo valiosas contribuições á sciencia patria.

Sobre todas, pelas consequencias, avulta a da creação da Filial do Instituto Oswaldo Cruz, em Bello Horizonte.

Foi ahi organizador acabado, administrador de raro tino, pesquizador emerito, orientador seguro e elevado da mocidade Mineira.

Sem elle, disse em sessão solemne um

illustre professor mineiro, não se teriam esclarecido os numerosas problemas de medicina local, do Estado de Minas, as clinicas não teriam alcançado á perfeição da actualidade na Capital mineira, e a propria Faculdade de Medicina d'aquelle Estado teria experimentado serios tropeços.

Sua direcção na Filial foi um grande exemplo para os moços.

Dezesete annos viveu elle doente. No começo e no fim do mal, não seguia, arrastava-se para o trabalho.

Suas energias moraes eram, porem, extraordinarias. Os dias cheios pelas bôas lutas eram seus dias mais alegres.

Os dois ultimos trabalhos de sua lavra, num dos quaes poz toda sua alma, foram escriptos já no leito de morte.

Desde 7 de Agosto de 1907 consagrou-se de corpo e alma á Filial de Bello Horizonte.

Com os olhos fixos em OSWALDO— seu grande modelo, dia a dia, hora a hora procurava melhorar, em Minas, a miniatura de Manguinhos.

Sondou as necessidades do meio. Por fim, conheceu-o como poucos.

Viu para logo onde estavam as carencias imperiosas e os estudos adequados á região.

Estabeleceu um laboratorio moderno, com todas as dependencias, adaptando para isso um velho predio cedido pelo Governo de Minas.

Contractou com o Estado o fornecimento da lympha ante-variolica e de todos os exames microbiologicos necessários á população.

Teve, para isso, de fazer em Minas um pouco daquillo que o Mestre já havia feito entre nós.

Viu-se obrigado a preparar para estes misteres desde o servente até os auxiliares technicos.

Em pouco tempo fornecia tambem ao Estado vaccina anti-typhica e abordava, sobre todos os aspectos, o problema dos Escorpiões.

Foi devido a ter elle cuidado destes Arachnideos que de lá partiram, entre os nacionaes, os trabalhos notaveis de EURICO VILLELA, A. LUTZ e OSWALDO de M. CAMPOS sobre o assumpto.

Havia ainda muita cousa á fazer. Com espirito previdente voltou-se EZEQUIEL DIAS para a questão do ophidismo, em Minas, e fundou finalmente, não sem grande luta, o 1º Posto anteophidico do Estado.

Só a resolução destes dois problemas bastariam para o sagrar um brasileiro benemerito.

Ao lado, todavia, deste intenso esforço organisador, emprehendeu trabalhos de pura sciencia, da mais subida valia.

Continuando sua «These»—obra classica sobre sangue entre nos—, praticou excursão scientifica á Lassance, onde fez os estudos sobre a Hematolojia da molestia de C. Chagas».

Esclareceu, neste capitulo soberbo da pathologia humana, pontos interessantes de sua pathologia.

Emprehendeu, com A. ARAGÃO, estudos sobre «Anaplasmas» e escreveu interessante memoria.

Sempre no seu assumpto predilecto, enfrentou com ardor sincero os problemas universaes da «Molestia de Hogdikin» e das Leucemias.

Quasquer que sejam as ideas scientificas actuaes ou futuras sobre estes tres ultimos assumptos, não é possivel retirar das communicações de EZEQUIEL DIAS, pela probidade, pelo zelo e pelas minucias com que foram realizadas um cunho de verificações preciosas.

Estudou, com H. MARQUES LISBOA, a interessante molestia dos bovideos denominada, em Minas, «Peste dos Polmões».

Até bem pouco tempo, era o unico trabalho nacional sobre a questão, e um dos raros da litteratura universal.

Escreveu ainda: «O Instituto Oswaldo Cruz — Resumo historico, modelo

de serena justiça e de modestia, onde «refere com pleno conhecimento e valiosas minucias toda a evolução do Instituto»; Licção inaugural de Microbiologia, na Faculdade de Medicina de Bello Horizonte; Prophylaxia dos Escorpiões, com MARQUES LISBOA e SAMUEL LIBANIO; e, finalmente, «Notas sobre OSWALDO CRUZ».

Este ultimo trabalho, escripto nos curtos intervallos saudaveis do final de uma molestia crudelissima, é uma obra prima no genero.

EZEQUIEL tinha pelo Mestre uma admiração, uma gratidão e amizade que não conheciam limites.

A longa convivencia e intimidade com OSWALDO faziam-no, por outro lado, uma voz autorizada para registrar flagrantes expressões da vida e das obras do Grande Homem.

Qualquer dos discipulos e amigos do fundador de Manguinhos verá naquellas paginas o retrato mental e moral de OSWALDO CRUZ.

Não é apenas a obra do Mestre que se espalha naquelles contos.

Nestes se reflectem os espiritos dos dois amigos, Mestre e dicipulo, creador e creatura.

O plano da obra, a escolha das materias, o bom gosto e tacto com que foram abordados e a elevação da linguagem mostram que EZEQUIEL era digno de OSWALDO.

Para coroar finalmente sua alevantada acção em Minas, faltava a creação de um Instituto Pasteur na Capital do Estado.

Vontade, e decidida, não lhe faltou nem tão pouco deliberado apoio na realização do emprehendimento.

As delicadezas moraes deste gardingo eram bem dignas de melhores tempos.

Preferiu sacrificar este tentame a magoar os melindres de uma velha amizade.

Não foram, porem, dias gloriosos os que encontrou, no caminho da sua vida, o benemerito fundador da Filial de Bello Horizonte. Na execução dos planos de trabalho, na perpetração de sua obra scientifica viu tambem «mares verdes», ceus de tormenta desfeita, o discipulo illustre de OSWALDO.

Tinha, alem de outras, herdado do Mestre a tempera de lutador destemeroso, mas sereno, a nobre doçura do semblante e dos gestos, não obstante possuir a firmeza de um coração intrepido e de uma alma impavida.

E é por isso que sua obra lá está, na Filial do Instituto Oswaldo Cruz, em Bello Horizonte, immortalizando-lhe o nome já coberto de bençãos pela Patria.

O. M.

Dr. OSWALDO CRUZ.

Traços de Oswaldo Cruz

Justificação.

Depois que RUY BARBOSA pronunciou aquelle celebre discurso sobre a vida publica do fundador da medicina experimental no Brasil, seria um crime de lesa-magestade retomar alguem o mesmo assumpto, si não estivesse ainda por escrever a biographia completa de OSWALDO CRUZ.

Do attentado ora commettido nestas paginas é principal auctor o Dr. CARLOS CHAGAS, que com a aggravante da superioridade jerarchica determinou ao seu subordinado que désse á publicidade alguns episodios e impressões relativos ao creador desta Casa. O mandatario disciplinado procurou cumprir o seu dever, mas manda a verdade declarar que o fez com todas as véras, embora lamentando a falta de attributos para tal empresa.

E não ha nisso falsa modestia.

A individualidade de OSWALDO CRUZ difficilmente achará quem a retrace em todas as suas linhas primorosas. Neste seculo de especializações cada vez mais aprofundadas, onde encontrar o escriptor impeccavel, com fóros de scientista e philosopho, afeito a estudos de arte e de psycologia, sonhador, moralista, etc., capaz de analysar e em seguida resumir tão complexa personalidade?

Ante taes embaraços, parece que o Director do Instituto resolveu designar um funccionario antigo para redigir seu depoimento pessoal, com a sinceridade que era licito esperar de quem só conhece motivos para venerar a memoria do seu bemfeitor.

Recáia, pois, sobre o verdadeiro responsavel a culpa de todas as imperfeições deste trabalho.

Devemos, porém, avisar aos simples curiosos que este singelo artigo não tem feição scientifica. E' apenas uma serie desconnexa de apreciações e factos escriptos a esmo, sem siquer a ordem chronologica. É um mero subsidio para a futura biographia, que, felizmente, competirá a outras mãos. É, em summa, um pequeno album de instantaneos onde houve a intenção de pôr em relevo certos traços caracteristicos do homem.

Os sabios, os criticos, os espiritos altamente differenciados não deverão pousar nem um momento os seus olhos sobre estas debeis linhas, destinadas tão sómente aos corações voltados para o bem, os quaes talvez aqui deparem ensinamentos uteis.

Ahi está, portanto, o objectivo deste opusculo: commemorando o primeiro centenario da independencia politica do Brasil, apresentar ás novas gerações alguns aspectos de um modelo de bellas virtudes varonis.

A todos aquelles que nos prestaram dedicados auxilios, seja-nos permittido consignar muitos e cordiaes agradecimentos.

Bello Horizonte, 30 de Agosto de 1922.

I—Lapidarios.

> "É uma verdade, que ainda não chegou ao dominio commum, que o ultimo grau de desenvolvimento mental em cada homem e em cada mulher só pode ser conquistado no desempenho dos deveres paternaes. Quando esta verdade fôr reconhecida, ver-se-ha então quam admiravel é a lei que obriga os seres humanos, pelas suas affeições mais fortes a sujeitar-se, elles mesmos a uma disciplina que por outra qualquer fórma evitariam."
>
> Herbert Spencer—"Educação intellectual moral e physica", trad. de E. d'Oliveira—Porto.

OSWALDO CRUZ era profundamente religioso; mas tinha uma religião sem ritos, entretecida apenas no intimo do coração.

Comtudo, quem procurasse estudar-lhe a complexidade psychica, talvez apparentemente feita de imprevisto e contradicções, havia de vislumbrar, vagamente entrelaçados numa caligem de poetico mysticano, sub-conscientemente confundidos no mesmo culto, o nome de Deus e a imagem paterna.

Que influencia, que puder extranho exercera sobre o sabio o vulto longinquo de seu Pae?

———

Seu Pae, Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ, falleceu no mesmo anno em que o filho se doutorou. Sua Mãe, D. AMALIA DE BULHÕES CRUZ, permaneceu viuva cerca de 30 annos, sobrevivendo 4 annos a OSWALDO, pois morreu aos 16 de Dezembro de 1921.

Foram rudes os primeiros tempos da vida do casal. Havia, no emtanto, a contrabalançar essas vicissitudes, um espirito de escól, em quem se congregavam todos os requisitos indispensaveis á doce figura do palco domestico. O esposo podia ausentar-se tranquillamente para o trabalho, porque em casa tudo havia de correr como si elle fôra presente. Na educação dos filhos, sobretudo, não se conheciam hesitações, dissidios, intermittencias. Reinava perfeita harmonia entre os conjuges, unidos principalmente pelos mesmos ideaes. Marido e mulher adoravam-se, e o perfil do chefe, naquelle ambiente pobre e sadio, pairava respeitavel, disciplinador, mas invariavelmente meigo, carinhoso. Por isso a consorte o amava acima de tudo; e ha ainda alguns mezes, sempre com os olhos d'alma volvidos para o passado, la ia a digna matrona de veneravel belleza anciã, com a cabeça a branquejar sobre o luto pesado, lá ia caminho do cemiterio, sobraçando flores predilectas e votivas, prosternar-se aos pés do esposo bem amado, lá no mesmo jazigo commum, á sombra da mesma casoarina, onde hoje dormem Pae, Mãe e Filho.

———

Foi nesse lar abençoado que se creou o unico filho varão.

Desde cêdo costumaram-n'o a conciliar os brincos da meninice com as obrigações escolares e domesticas. Ao levantar-se, cumpria-lhe compôr o proprio leito, arrumar o quarto, tratar de si mesmo, sem auxilio de ninguem. Queriam-n'o trabalhador e independente.

Nesse ponto eram os Paes tão rigorosos, que, certo dia, estando Elle no collegio primario, em plena aula, recebeu um recado da familia, que o chamava á toda pressa. O professor ordenou que o menino partisse immediatamente, imaginando para logo qualquer acontecimento extraordinario. Entretanto, após curta demora, estava o pequeno de volta; e, todos, a começar pelo preceptor, cheios de natural curiosidade, o torturaram de perguntas. Mas não houve quem lhe arrancasse uma palavra. Só mais tarde se veiu a saber que se tratára de uma obrigação por cumprir: OSWALDO por esquecimento deixára a cama desfeita...

———

Era sagrada a hora do estudo. Todos os dias, houvesse festa ou visitas, o rapazelho havia de se retirar para o quarto afim de preparar as lições. Não tinha meios de fugir áquelle dever diario de consagrar 2 horas aos livros. A's vezes, estava o collegial entretido em animados jogos infantis, quando chegava o momento terrivel de ir para o trabalho. Pois o Dr. CRUZ era inexoravel. Ninguem conseguia demovel-o das suas normas, sempre insensivel aos rogos do filho, dos amigos, de todos, emfim. E lá ia o estudante para o posto de honra, a entre-ouvir a algazarra feliz dos parceiros, emquanto Elle nem siquer podia ler, porque as lagrimas lh'o vedavam.

Não obstante, em meio á severa disciplina, o educado era o melhor amigo do Pae, com quem vivia sempre a conversar intimamente, como si fossem dois irmãos ou dois amigos inseparaveis entre os quaes não se permittissem reservas.

Além disso, naquelle systema de educar, não se conheciam castigos corporaes: condemnava-se a velha escola de pancadaria. O rapazola havia de ser creado com rigor, mas proscreviam-se todas as penas vexatorias, que tantas vezes subtrahem ao animo juvenil certos sentimentos nobres. O methodo paterno consistia em incutir no raciocinio do pirralho a necessidade daquelle modo de vida. Quando não era attendido, reprehendia-o. Quando a reprehensão não era sufficiente, vinham as sentenças comminatorias: em geral, privações de passeios e cousas appetecidas; na maioria dos casos, as penalidades não iam além da suppressão dos carinhos habituaes; bastava quasi sempre a recusa do beijo com que Pae e Filho á noite se apartavam.

———

Ao admirar as regras educativas desse extraordinario modelador de espiritos, tivemos, á primeira vista, a impressão que lhe eram familiares o methodo persuasivo, os alevantados preceitos de HERBERT SPENCER e até os estudos psychologicos que constituem a base da moderna pedagogia. Agora, porém, temos elementos para crer que elle tinha perfeita intuição de tudo isso, assim como das leis racionaes de WILLIAM JAMES.

O nosso pedagogo pratico não precisava de principios que muitas vezes são apanagio de doutrinadores meramente theoricos, capazes de traçarem magnificos roteiros espirituaes para uso alheio, mas frequentemente incapazes de applical-os quando mais necessarios se tornam, como fazem esses optimos pregadores e pessimos sacerdotes dos quaes foi maioral J. J. ROUSSEAU, cujas fraquezas são bastante conhecidas, si bem que differentemente interpretadas.

Não. Ao contrario disso, o Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ era um homem de ideaes. Desde que lhe nascera o filho, havia feito firme proposito de tornal-o grande, nobre, feliz. Sentia palpitar-lhe dentro d'alma um poder occulto e invencivel que lhe indicava o caminho a se-

guir. Era a força de vontade; era o seu peregrino caracter. Bastava-lhe isso. E para comproval-o, vamos citar ainda um episodio, em que fica demonstrado ter sido o exemplo o elemento preponderante na formação moral de OSWALDO.

— « Certa vez-contava o Mestre-meu Pae surprehendeu-me a fumar. Admoestou-me com brandura, fazendo ver que as creanças não devem ter vicios. Apontou-me um a um os inconvenientes e maleficios que d'ahi podiam advir-me. Foi, em synthese, uma prelecção completa e cabal a respeito do mau habito que eu forcejava por adquirir.

« Comtudo, continuava Elle, o eloquente sermão não logrou convencer-me, porque dias depois fui novamente pilhado com o cigarrinho na bocca. Meu Pae mostrou-se então zangado, triste. Censurou-me com menos paciencia do que a que lhe era habitual. Repetiu-me os conselhos anteriores e terminou por um appello formal á affeição que eu lhe dedicava. Mas eu lhe retorqui singelamente:

— Papae tambem não fuma?

« Na verdade meu Pae era um fumante inveterado. Desde adolescente escravizára-se ao tabaco. Usava cigarros, charutos, e até cachimbo. Fizera varias tentativas para abandonar o vicio, sem nunca o conseguir. Pois bem: desse dia em diante, como por encanto, deixou para sempre, o habito de tão longos annos...

———

OSWALDO tambem nunca mais fumou; e tinha a preoccupação de converter os poucos fumivomos que lhe mereciam o affecto, narrando cheio de saudades e emoção esse delicadissimo episodio em que se espelha integralmente a belleza da alma paterna.

De facto, todas as virtudes masculas, todas as dedicações sublimes ahi se acham crystallizadas na abdicação dos proprios desejos, na renuncia do unico prazer capitoso desse varão puro e austero, no devotamente decidido á perfeição do filho.

Por conseguinte, a esse casal augusto, a esses lapidarios d'almas, deve a Patria uma braçada de flores, neste momento de reparações historicas e piedosa gratidão.

II—Na Penumbra

OSWALDO sempre foi de genio concentrado.

Esse retrahimento chegara a ser timidez nos primeiros passos da sua vida de estudante. Isso lhe valera uma reprovação em latim, o que Elle contava sem rancor, confessando que o caturra FORTUNATO DUARTE, seu algoz, muito concorrera para que se apreciasse melhor o sabor das leituras classicas.

Sempre avesso a exhibições de qualquer natureza, era um mau examinando, cujas provas publicas nem sempre correspondiam ao seu preparo. Narrava Elle que, no exame oral de chimica organica, embora n'essa occasião já fosse interno de cirurgia, de tal modo se perturbara que affirmou perante os examinadores que o chloroformio, como anesthesico geral, era administrado pela bocca.

Por esse e outros motivos o seu curso não teve o brilho que se devia esperar do seu talento e do seu amor aos livros. Mas isso não o preoccupava. Lugares de evidencia, premios, renome, tudo deixava aos outros, comtanto que alcançasse o seu objectivo: saber, saber muito, aprendendo rapidamente.

Dir-se-ia que, já então, antevendo o seu fim prematuro, tinha pressa de viver...

Assim, fez o curso em 4 annos, galgando o 1º e o 4º, de modo que aos 20 era doutor em medicina, tendo defendido these sobre « Vehiculação microbiana pela agua », apresentando um engenhoso apparelho original para a co-

lheita aseptica d'esse liquido em diversas profundidades.

Em consequencia da sua natural esquivança, passou durante muito tempo despercebido á maioria dos mestres, á excepção de MARTINS TEIXEIRA, com quem trabalhou no gabinete de physica, de ROCHA FARIA, em cujo laboratorio lhe nasceu o gosto pelas questões de hygiene e microbiologia, e de FRANCISCO DE CASTRO. Era este ultimo quem, por vezes, entre brandas censuras ao seu feitio concentrado, lhe augurava um futuro brilhante, mas só á custa de talento e muito trabalho. Ao demais, foi o egregio professor de clinica propedeutica quem exerceu certa influencia na sua carreira. Como dedicado medico assistente do Dr. BENTO CRUZ, teve o Professor CASTRO ensejo de se approximar de OSWALDO, aconselhando-o a deixar a clinica e o pequeno laboratorio improvisado no porão de sua residencia afim de ir a Europa estudar para um provavel concurso na secção de hygiene e medicina legal.

E assim Elle fez, permanecendo em Paris quasi 3 annos, repartindo intelligentemente o tempo entre o Instituto Pasteur e o Laboratorio de Toxicologia. N'este, ao lado de OGIER e VIBERT, se orientou cabalmente em tudo quanto se relaciona com a moderna pratica medico-legal, toda ella baseada em solidos alicerces scientificos.

Mas onde se lhe antolhou o ambiente intellectual que anhelava foi no Instituto Pasteur. Ahi, o acolhimento do Prof. ROUX foi tão significativo que sahiu dos moldes adoptados n'essa instituição. Nunca indemnizou o material de trabalho e os animaes de experiencia, conforme era de praxe. Tudo *gratis*. Indagando, veiu a saber que devia tamanha munificencia e outras muitas gentilezas ao facto de ser o primeiro filho do Brasil, que batia ás portas da Casa de Pasteur, para cuja fundação concorrera generosamente o magnanimo D. PEDRO II. Entretanto, já não viviam nem o genio creador da Microbiologia, nem o nosso ex-monarcha. Mas no glorioso Instituto tambem sabiam e sabem zelar os sentimentos de gratidão, e por isso lá deve estar até hoje o busto do nosso ultimo Imperador, como uma prova de que o culto da sciencia não repelle as delicadezas de sentimento.

OSWALDO apreciava extraordinariamente esse e outros traços do grande bacteriologista, de quem se tornou amigo sincero.

Outra amizade ahi tambem adquirida foi a de METCHINIKOFF, cujas idéas e doutrinas admirava com enthusiasmo. O sabio russo retribuia-lhe *ex-corde* o affecto e achava especial prazer em conversar com o seu joven amigo brasileiro, na lingua deste, a qual havia aprendido na Ilha da Madeira, onde expirara a sua primeira esposa. E seria talvez bem differente a trajectoria de OSWALDO, si annuisse ao honroso convite para trabalhar definitivamente no laboratorio do genial descobridor da phagocytose.

Mas para isso seria preciso que o nosso patricio não amasse bastante a sua terra.

Ainda em Paris, aproveitou a opportunidade para fazer um aprendizado que estava fóra do seu programma: seguiu um curso completo de vias urinarias, sob as vistas do velho GUYON, que ainda pontificava no assumpto, e de ALBARRAN, que alvorecia na celebridade. Aperfeiçou-se a ponto de se familiarizar com os segredos da cystoscopia, do catheterismo dos ureteres, etc. No emtanto, quem quizesse saber o motivo desse pequeno desvio da rota que Elle se havia traçado, teria de perguntal-o áquelle discreto e perfeito coração, porque o singular urologista uma unica voz e n'um só caso clinico, se servira de especialidade: para tratar de um amigo a quem consagrava profundo reconhecimento.

Finalmente ao regressar á Patria, quasi nos fins de 1899, era um microbiologista consumado, mas não passava de

chefe de laboratorio da Polyclinica do Rio de Janeiro. E jamais seria professor da Faculdade de Medicina.

III—Um retrato antigo.

Por volta do ultimo trimestre de 1899 entrou a ser notada no Rio de Janeiro uma figura que se destacava do vulgacho carioca.

Todos os dias, mais ou menos á mesma hora, quando os bondes desciam apinhoados para o centro da cidade, era certo encontrar-se n'um dos carros de « Largo dos Leões » aquelle homem apparentemente robusto, de estatura meã, sobrecasaca preta, cartola muito alta, gravata branca a Principe de Galles. A tez levemente morena; a cabelleira basta e castanha, entresachada de longos e numerosos fios brancos; o bigode fulvo e eriçado a lhe descobrir a bocca amplamente rasgada, onde os dentes fortes se entremostravam; o nariz bastante pronunciado; e dominando a physionomia, uns olhos grandes, muito expressivos, de um tom verde claro, davam-lhe ao semblante um aspecto original.

Quem se propuzesse adivinhar-lhe a idade ficaria realmente hesitante. A expressão physionomica entre doce e austera, a cabeça alvacenta a contrastar com os traços juvenis, tudo isso desconcertava áquelle que intentasse calcular-lhe o numero de annos de existencia.

Além disso, os modos, a attitude, o quer que é de distincção e fidalgia, um tudo-nada contemplativo faziam que os psychologos de esquina lhe attribuissem uma serie de lendas que ainda mais excitavam a coscovilhice dos basbaques.

Posto que n'aquella epoca fôsse commum semelhante traje archi-solemne, comtudo, não passava despercebido, onde quer que apparecesse, o vulto encartolado do extranho personagem.

Certo dia, durante um concurso na Faculdade de Medicina, por entre a agglomeração dos assistentes, distinguia-se o singular desconhecido, envolto na sua rabona, agarrado á sua pasta, alheio á bisbilhotice da patuléa que em torno o escabichava com afinco.

— Quem é esse typo?

Ninguem ao certo sabia responder.

Aqui diziam diplomata: aquelle todo não negava; não podia deixar de ser consul ou ministro plenipotenciario. Outros julgavam-n'o artista, naturalmente por causa da farta cabelleira: talvez musico, talvez pintor ou poeta. Acolá, em meio á casquinada dos rapazes, corriam versões jocosas: não passava de um photographo (*), porque lá tinha elle uma pasta, a celebre e inseparavel pasta de couro negro, a qual á distancia lembrava uma KODAK.

———

No emtanto, quem se approximasse dessa creatura enigmatica, logrando chegar-lhe á intimidade, teria uma surpreza absoluta.

A primeira qualidade a ser revelada era uma educação apuradissima, que difficilmente seria imitavel: uma educação sobria de verdadeiro *gentleman*, cujo tacto sabia differençar um moço de um ancião, uma senhora de uma rapariga; um cavalheiro, emfim, que não distribuia sorrisos indifferentemente e não beijava todas as mãos femininas que se lhe extendessem, mas que tinha o dom quasi instinctivo de dar a cada um o acolhimento que merecia.

Pois esse mesmo manto delicado de cortezia talvez concorresse para lhe velar ainda mais o espirito que, com todos os seus predicados, ninguem como Elle sabia recatar.

Effectivamente, OSWALDO era naturalmente calado. Na sua residencia, na sala de estudos, lá está até hoje uma

---

(*)—Houve, de facto, nessa data, um grupo de estudantes que o appellidou "Dr. Photographo". E o mais interessante é que Elle o era, mais habilissimo.

terra-cotta que representa um frade com o dedo indicador em frente aos labios a recommendar silencio. Porque o silencio era o seu grande amigo, confidente e conselheiro.

Todavia, quando algum intimo o furtava á meditação, nos seus raros momentos de expansibilidade, era um encanto ouvil-o discretear. E aos raros felizes que ás vezes alcançavam desnastrar-lhe algumas das cortinas espirituaes, para esses se entreabrira um mundo de predicados que passavam totalmente despresentidas aos olhos da sociedade.

IV—O primeiro recruta.

Ao acceitar a missão de fundar o primeiro estabelecimento sôro-therapico no Brasil, o Mestre convidou para seu ajudante um antigo condiscipulo que exercia as funcções de gerente da casa de saúde dos Drs. CATTA PRETA, MARINHO e WERNECK.

OLIVEIRA VIANNA, o mencionado amigo, era e felizmente ainda é um typo originalissimo no nosso meio, onde o titulo de doutor seduz a grande maioria da mocidade. VIANNA fez todo o curso medico com raro aproveitamento; ao chegar, porém, a occasião de se doutorar, negou-se obstinadamente, não consentindo jamais em apresentar a imprescindivel these. Entretanto, era esse homem quem suggeria pontos de dissertação a numerosos doutorandos dos que frequentavam aquella casa; era elle quem lhes fornecia livros e revistas, quem lhes orientava o desenvolvimento do assumpto, com erudição e clarividencia admiraveis; era elle, finalmente, que muitas vezes lhes corrigia a obra, escoimando-a dos attentados á sciencia, á logica e até á grammatica.

A despeito da forte amizade que o ligava a OSWALDO, não quiz VIANNA abandonar a sua antiga tenda de trabalho, onde tambem o prendia um affecto quasi filial á pessoa do velho Conselheiro CATTA PRETA, a quem se consagrou até á derradeira hora do saudoso cirurgião.

O Mestre cobiçou para o seu projectado Instituto esse inconfundivel modelo de caracter, intelligencia e modestia. Não o conseguindo, viu-se forçado a pedir a outro amigo a indicação de um estudante de medicina que lhe acceitasse as condições. ALFREDO PORTO- um grande coração que infelizmente já não existe- foi o incumbido da tarefa. PORTO, movido pela sua bondade infinita, lembrou-se logo de um estudante pobre a quem havia promettido uma collocação em seu estabelecimento hydro-electrotherapico. Sem perda de tempo, deixou os seus interesses e partiu para a pensão, onde residia o rapaz, encontrando-o a dormir, em pleno dia, vespera de exame, com o compendio de HALLOPEAU aberto sobre o peito semi-nú. Despertou-o risonhamente, gracejando com leve ar de censura, e deu-lhe conta do convite. A hora aprazada, subiam os dous as escadas de um sobrado á travessa de S. Francisco nº. 10, onde tinham consultorio os Drs. CANDIDO DE ANDRADE e LUIZ BARBOSA e onde tambem estava montado com muito capricho um gabinete de microscopia e de analyses clinicas.

Feitas as representações, retirou-se o Dr. PORTO, deixando a sós os dois recem-conhecidos, que entabolaram o seguinte dialogo:

— Em que anno está o Sr?

— No terceiro.

— Tem medo da peste?

— Não, senhor.

— Está disposto a trabalhar tantas horas quantas forem necessarias para cumprir as suas obrigações, sem dependencia de nenhum horario fixo?

— Perfeitamente.

— Agora uma ultima pergunta, á qual ligo muita importancia: O Sr. conhece alguma cousa de bacteriologia?

O moço teve um momento de duvida: de um lado, a fascinação que exercia sobre si o inesperado cargo de auxiliar de um verdadeiro scientista, além dos proventos que d'ahi lhe adviriam; de outro lado, a sua consciencia que o compellia a dizer a verdade. Optou por esta, deixando-se, porém, cahir interiormente n'uma crise de abatimento moral.

— Não, senhor.

— Pois está muito bem; é essa uma das condições exigidas.

———

Tempos depois, valendo-se da bondosa condescendencia do Mestre, o ex-recruta perguntou-lhe curioso:

— Lembra-se das condições que o Sr. me apresentou para ser seu ajudante?

— Mais ou menos.

— Porque é que o Sr. fazia questão de um auxiliar sem nenhuns conhecimentos de microbiologia?

— Por uma razão muito simples: porque si você soubesse alguma cousa da materia, devia ser muito pouco, só servindo para lhe dar presumpção e portanto difficultar o seu aprendizado. E eu prefiro certos ignorantes...

V—A Lancha de Manguinhos.

Morto o Pae, fez OSWALDO questão de o succeder na clinica, labutando no mesmo bairro, attendendo aos mesmos doentes, praticando a mesma caridade. Ainda hoje, entre os pobres antigos da Gavea, deve haver quem confunda os nomes dos dous medicos, envolvendo-os nas mesmas bençãos e orações.

Nessa faina de clinico, conheceu de perto a febre amarella, com todos os seus horrores. Muitas vezes lhe ouviramos a narrativa de casos a que assistira e que se lhe gravaram para sempre na memoria. Alanceavam-lhe o peito os soffrimentos das victimas; acima de tudo, porém, o acabrunhava a fallencia completa da therapeutica e da prophylaxia. Por isso foi com incontido alvoroço que acompanhou os trabalhos da commissão norte-americana em Cuba, dos quaes tirou para logo todas as inferencias cabiveis. E então, com um ardor patriotico que mal podia reprimir, falava aos discipulos na possibilidade de realizar semelhante campanha no Rio de Janeiro, chegando a propor aos seus minguados auxiliares uma tentativa parcial n'um arrabalde, afim de apresentar aos poderes publicos uma demonstração pratica e convincente.

Embora não tivessem a minima competencia para julgar tal commettimento, os seus companheiros não hesitariam em acceitar os postos que lhe fossem confiados. Mas as cousas soffreram uma repentina modificação.

Effectivamente, OSWALDO sempre tão assiduo ao serviço, deixou de ir a Manguinhos dous ou tres dias seguidos, sob o pretexto de obter uma lancha para o pessoal, que luctava com a falta dos meios de conducção.

Qual não é, porém, a surpreza quando em vez da embarcação promettida apparece nos jornaes a nomeação do Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ para o cargo de Director geral da Saúde Publica.

Todavia, no dia seguinte, ao tornar ao Instituto, onde o aguardavam os emboras da grei manguinhense, fôra Elle o primeiro a recusal-os, visto que já não era mais o chefe da repartição sanitaria.

— Como assim?

— Porque já pedi demissão.

Explicadas as cousas, o Mestre se vira na conjectura de fazer tal pedido, porque o governo começara por lhe faltar a um compromisso solemne, qual o de lhe conceder autonomia absoluta no exercicio do cargo. E sem lhe dar satisfacção, lhe nomeára o secretario, nomeação essa que aliás recahira numa das figuras mais brilhantes d'aquella geração medica.

Desnecessario seria dizermos que o grande Presidente reconsiderou nobremente o acto, negando a exoneração pedida e nomeando o collega que OSWALDO já havia convidado: o Dr. J. PEDROSO.

D'ahi a dias atracava na nossa velha ponte de madeira, (hoje substituida por outra de cimento armado) uma garrida lancha a vapor, especialmente destacada pelo novo Chefe da Saude Publica para o serviço do Instituto.

Estava cumprida a promessa.

Faltava-lhe ainda alguma cousa que tambem havia de conseguir: a realização de dous bellos sonhos.

VI—Um cartão postal (*).

Meus senhores:

Antigamente, o nosso primeiro dia de aula era festivo. Por entre alegrias e esperanças, aqui nos reunimos para celebrar o inicio d'estes trabalhos.

Relembravamos então os primordios da Microbiologia. Commemoravamos o advento da era microbiana, recontando as doutrinas que foram por esta subvertidas. Remontavamos ás pugnas em torno da famigerada « geração expontanea », vetusto monumento que um só homem derruiu.

Enalteciamos a memoria do fundador da Bacteriologia, o genio da benemerencia, o nome de mais brilho que jamais perlustrou os dominios da Biologia.

Era com indizivel gaudio que reconstituiamos os primeiros passos de PASTEUR ao desbravar o caminho para a gloria.

Depois, embóra de relance, apontavamos outros nomes illustres, de diversas nacionalidades, todos a disputarem os louros da peleja em pról dos mesmos ideaes.

Nesse concatenar de nomes e de feitos, procuravamos sempre realçar algo que pudesse servir de exemplo para a mocidade, afim de que esta bebesse em lousas veneraveis a verdadeira lição para a vida e para o trabalho. « Os vivos são sempre e cada vez mais governados pelos mortos ».

Agora, mais do que nunca, tem cabimento a piedosa sentença.

Mais uma lapide veneravel veiu ajuntar-se ás que eram alvo do nosso preito: e essa a de um Morto cujo espirito é a razão de ser deste modestissimo curso.

***

Meus sunhores, nunca nos ha-de esquecer o dia em que surprehendemos OSWALDO CRUZ a ler e meditar um livro precioso: « La vie de Pasteur ».

Esse livro é um evangelho, em que VALLERY-RADOT, genro do immortal sabio francez, conta, dia por dia, com vero amor filial, a vida do grande varão.

Relendo-o agora, pudemos comprehender o enlevo daquella dignificante leitura, a que o Mestre se entregava nos bons tempos embryonarios de Manguinhos.

Relendo agora alguns trechos dessa obra grandiosa, convencemo-nos de que esta foi o seu guia predilecto. Relendo-a, verificamos a extraordinaria semelhança entre PASTEUR e OSWALDO: o mesmo feitio moral, a mesma nobreza de sentimentos, a mesma fé inquebrantavel na Sciencia, o mesmo arcabouço de luctador, a mesma preoccupação de bem-fazer, a mesma probidade profissional, o mesmo ardor patriotico, o mesmo amor do trabalho, o mesmo desvelo com a familia, a mesma capacidade de attrahir proselytos, a mesma amizade aos discipulos, o mesmo poder de suggestão, que os fazia chefes de escolas incontrastaveis. Ambos geniaes e simples, victoriosos e compassivos.

Agora que ambos pervagam nos pá-

(*) — Primeira licção de Microbiologia, em 1907, na Faculdade de Medicina de Bello Horizonte.

ramos da eternidade, irmanemol-os na mesma reverencia.

N'esta alludida biographia ha uma phrase magistral: « Da vida dos homens que têm assignalado sua passagem por um traço de luz duravel, recolhamos piedosamente, para o ensinamento da posterioridade, até as minimas palavras, os minimos actos capazes de tornarem conhecidos os aguilhões da sua grande alma ».

Esta phrase é do proprio PASTEUR, que sabia tão bem render homenagem aos luminares como elle. São provas disso a amizade respeitosa e o sincero culto que votava aos sabios d'aquella epoca, principalmente aos seus Mestres, mórmente aos mais velhos, especialmente a BIOT, J. B. DUMAS, SAINTE-CLAIRE DEVILLE, CHEVREUIL, CLAUDE BERNARD, REGNAULT, etc.

Ora, Senhores, essa mesma phrase deve ser tambem o lemma que todos os discipulos do PASTEUR brasileiro temos de adoptar, afim de que se não percam no esquecimento as grandiloquas lições que sublimam a sua vida publica e particular.

Emquanto não se elabora a biographia de OSWALDO, a qual seu successor escreverá com mais auctoridade do que ninguem; emquanto não verte o opulento manancial de civismo, que todos aguardamos com anciedade, podemos e devemos, cada um na medida das proprias forças, esbater alguns traços mais impressionantes da sua inconfundivel physionomia moral, intellectual e scientifica.

Por conseguinte, áquelle que vos falla tambem cumpre prestar o seu singelo depoimento,—embora lhe falleça a necessaria competencia. Mas, neste caso, onde falta o fulgor da palavra, sobeja a sinceridade do sentimento; e á mingua de sumptuosidade literaria, recorra-se ao recesso do coração, que, ás vezes, tambem suppre o estylo e o pensamento.

É por isso que, movido pela gratidão, que tributamos á sua memoria, vamos dizer-vos, em palavras simples, na linguagem que Elle amou, alguma cousa da sua vida, que é o mais puro, o mais nobilitante exemplo para a mocidade, em cujo seio quizeramos esparzir, si fôra possivel, todo o balsamo do seu espirito inegualavel. Entretanto, uma difficuldade se nos antolha: que devemos narrar-vos? sua carreira profissional? seus celebrados feitos? as peripecias de suas luctas? sua obra? Seria impossivel resumir aqui tudo isso, ou siquer uma parte da sua magnifica trajectoria pelo mundo. Todavia, fallando a moços, a almas que precisam se formar ao calor de outras almas bem formadas, queremos referir um traço apenas da sua estructura moral. E esse talvez baste para caracterizar a personalidade de OSWALDO CRUZ.

Transportemo-nos aos tempos do combate gigantesco á febre amarella. Graças á efficaz intervenção de um amigo—o Dr. SALLES GUERRA,—o governo RODRIGUES ALVES acabava de confiar ao jovem pesquizador os serviços sanitarios do paiz. A nomeação de um bacteriologista era pessimamente recebida pelo que se convencionou chamar *opinião publica*. Os jornaes extranhavam que um homem habituado ao campo restricto do microscopio fosse capaz de se librar em tão altas,, tão amplas responsabilidades e cogitações, esquecidos, talvez, de que, em todo o mundo civilizado, os hygienistas sóem sahir justamente desses mesmos laboratorios malquistos. Mostravam-se todos estupefactos ao saber do revolucionario programma de saneamento, que o novo chefe empunhava.

A theoria culicidiana, pela qual se explica e se prova a transmissão do typho icteroide, parecia agonizar aos golpes iracundos que a medicina e a critica indigenas lhe desferiam. Naquella epoca-póde dizer-se quasi sem receio-ninguem levava a serio tão abstrusa fantasia.

Organizou-se então contra o Director Geral de Saúde Publica a celeberrima campanha, que, provavelmente, os contemporaneos ainda não olvidaram.

A classe medica em peso, chefiada pelos maioraes do ensino (com rarissimas excepções, entre as quaes o saudoso e notavel PEDRO DE ALMEIDA MAGALHÃES), condemnava implacavelmente a famosa doutrina. Do alto de cathedras imponentes cahiam sobre o *monstro* fulmineas sentenças.

No Congresso Nacional, na alta administração, nos conciliabulos, na praça publica, por toda a parte, cobriam de apodos o pretencioso saneador.

Todos os jornaes leigos, todos os jornalistas (menos MEDEIROS e ALBUQUERQUE e AGENOR DE ROURE tambem, que tinham a clarividencia e a impavidez de defendel-o), todos o zurziam sem cerimonia. O artigo de fundo, inspirado ou não por comparsas profissionaes, azorragava-o diariamente de rijo.

Das differentes armas, comtudo, arremessadas contra o responsavel-mór pela infrene matança dos mosquitos, uma havia, que era a preferida.

Era o ridiculo, o ridiculo em todas as suas modalidades: ora o epigramma acerbo, ora o mordaz remoque; a chacota insulsa, ou a chufa de recoveiro; a maliciosa caricatura; a ironia subtil, tendenciosa; e até o convencio, grosserias, e a propria calumnia infanda. Tudo servia.

Poetas e poetaços prestavam optimo serviço á causa. Versos picantes não rareavam nas columnas humoristicas dos periodicos.

Lembra-nos ainda uma versalhada nephelibata, que fez época:

De dezembro em noites calidas
As culicidias exoticas
Parecem deusas chloroticas
Ou parasitas esqualidas

E por ahi além. Quadras, sonetos, todos os metros de arte poetica, trovas adaptadas ao violão...

Tudo servia.

A musica-honra lhe seja feita-assim como a caricatura, cumpriu cabalmente o seu dever; e o genero «modinha» ganhou mais de uma composição, que fazia as delicias até dos «cordões» carnavalescos. O saneamento de Cuba,citado em um trabalho official da Repartição de Hygiene, deu ensejo a copiosas pilherias, inclusivamente a uma cançoneta mais ou menos nescia, que «O Malho» publicou com a respectiva parte musical.

De modo que a opposição não lhe dava treguas nem quartel.

Qualquer medicastro embelecado com sciencia de fancaria, qualquer ignaro labrêgo, um parvajola qualquer se arrogava direitos de critico, e assumia attitudes cathedraticas, e compenetrava-se de que era homem para desfazer na reputação alheia, ou idoneo para derrocar noções, factos scientificos, que nem por sombras lhe passavam no alcance do peco bestunto.

Pois no meio de toda essa atroada infernal, que durou largo tempo, o sabio continuava imperturbavel e sereno, a seguir a sua rota, com destemor, a vencer obstaculos innumeraveis, a convencer os discipulos, a persuadir os auxiliares, a disseminar conhecimentos até então ignorados, a estabelecer a nossa modelar legislação sanitaria, a erguer a indestructivel escola de Manguinhos, e, finalmente, isentando a Patria de manchas negrejantes que a deslustravam, alcançar a mais esplendorosa victoria contra o mal e contra a morte.

Antes, porém, do monumental triumpho, quão longo e duro fôra o caminho...

Um bello dia, quando ainda ninguem acreditava no exito de tão herculea empresa, quando mais truculenta e cruel ia a obra do ridiculo, realizou-se no Rio de Janeiro uma festa de caridade.

Senhoras do escól social porfiavam em angariar donativos para uma instituição pia. Entre outros meios de captar beneficios, houve um, que não deixava de ser algo curioso: levaram a leilão varios cartões postaes escriptos por homens notaveis da epoca. Cada bilhete continha ora uma phrase requintada, ora poesias de auctores consagrados, ora breves trechos musicaes, etc., em conformidade com o gosto artistico ou a profissão de cada signatario.

Alguns alcançaram preços avultados, com que a alta sociedade acolhia as notabilidades que os firmavam. E a festa mundana ia correndo suavemante, sem nenhuma discrepancia, sem a mais leve nota dissonante.

Senão quando, surde, por fim, um cartão com uma assignatura mal intelligivel por baixo de uns dizeres, que deviam ser extremamente comicos, tal o sussurro de sarcasmo, que o recebera. As palavras do dito cartão não as cito textuaes, porque só as tenho approximadamente de memoria; mas a idéa resumia-se mais ou menos no seguinte:

« O mosquito é o unico transmissor provado da febre amarella.—(assignado) GONÇALVES CRUZ ».

Esse cartão, que uma pessoa bondosa conseguiu arrebatar ao ridiculo, ao innominavel escandalo, que o aguardava, é incontestavelmente uma obra prima!

Demonstra elle até que ponto uma consciencia recta e lucida é capaz de uma convicção scientifica.

Esse pequeno cartão é o retrato moral de um homem. Da primeira á ultima letra tudo ahi resumbra o animo varonil, a intrepidez, a immensuravel energia, a sinceridade sem limites, o caracter perfeito de uma individualidade forte e incomparavel.

A propria assignatura esse *Gonçalves Cruz*, com que até nos ultimos e dolorosos dias de existencia se assignará, até isso releva uma face bellissima e quasi desconhecida da sua extructura moral.

Ao brilho do nome OSWALDO CRUZ, mais tarde consagrado, ultimamente coberto de gloria, e pelo qual era em toda a parte conhecido, preferiu sempre aquelle'outro sobrenome, que herdára do seu digno Pae—o Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ—cuja vida honrada e cujas nobres virtudes tamanha influencia exerceram sobre a formação da sua personalidade.

Era esse um dos diversos modos porque idolatrava a memoria do seu Progenitor, a quem amara com o mais acrysolado amor filial.

Esse diminuto cartão não sabemos por onde andará. Sabemos apenas que, para proveito dos vivos, devia figurar na antiga sala da directoria do Instituto de Manguinhos; aquella mesma sala que as mãos affectuosas de CARLOS CHAGAS transformaram em discreto museu, onde tudo permanecerá para sempre tal qual o Mestre deixou; onde tudo, a cada passo, parece evocar a sua egregia figura; onde, a cada momento, vemos resurgir o seu porte distincto, com o inseparavel *dolman* branco, com a bella cabeça de artista, com a cabelleira alva sobre o juvenil semblante, com a mesma austera sympathia, pensando, escrevendo, trabalhando, resolvendo problemas transcendentes, ouvindo e estimulando os discipulos, prodigalizando-lhes os thesouros do seu coração munificente; n'aquelle augusto recinto, onde ninguem ousa tocar no mais insignificante objecto; e onde os visitantes observarão com respeito que, na Casa que Elle creou e que tanto estremecia, se guardam como reliquias inestimaveis essas pequenas cousas, que refletem recordações infinitas, lembranças do grande Astro, que a illuminou; ahi, nesse carinhoso santuario onde sempre errara o seu genio immortal, e onde, quando o animo se nos entibiar, iremos os seus discipulos haurir coragem e civismo para as jornadas cruentas da vida.

***

Meus senhores, quizemos referir-vos, de preferencia, esse episodio, em vez de qualquer outro dos muitos que poderiamos contar-vos, porque esse, por bem dizer, resume a vida inteira do Homem.

Ficae sabendo que a mais avantajada erudição, a mais brilhante originalidade intellectual, o mais peregrino talento, a maxima capacidade de trabalho nada d'isso valerá si não correr parelhas com a sinceridade, que, até na opinião de um sceptico, é o verdadeiro apanagio das obras duradouras.

Bem hajam, pois, os illustres docentes desta Faculdade, que se lembraram de esculpir tão assignalado nome nos porticos deste laboratorio.

A homenagem-nós o sabemos—é exigua demais para tão grande vulto. Acanhadissimo o ambiente para o Nume, que de ora avante irá pairar sobre os destinos desta cadeira, cujo detentor actual é fragillimo para supportar a tremenda responsabilidade. E todos, todos os que aqui mourejamos, nos sentimos obumbrados, deprimidos ante a majestade do nome aureolado que rebrilhará sobre nossas cabeças.

Apezar disso, bem hajam os auctores dessa lembrança.

Porque dia virá em que o Brasil, já na posse de si mesmo, assistirá ao surto magnifico que lhe está reservado. Os homens do porvir, os compatricios vindouros comprehenderão facilmente as paginas da Historia, que aos nossos olhos se vão desdobrando. A Humanidade desfructará todos os bens que a Sciencia lhe dará. A Sciencia, maior do que as artes, maior que tudo, reinará sem contraste sobre a Terra.

E então, quando os escribas procurarem nos desvãos do passado os nomes para o Pantheon brasileiro, tambem aqui encontrarão, modestamente embora, o symbolo da nossa liturgia, o idolo venerado pelos obreiros desta recondita officina.

Bello Horizonte, 11 de Abril de 1917.

VII — Zé orgueiro.

N'uma das suas viagens ao Norte do Brasil, em Sergipe ou Alagôas, narraram-lhe a historia de um artista obscuro que havia fabricado, sósinho e sem nenhuns recursos, um complicado instrumento musical: um orgão para a igrejinha pobre da sua freguezia.

OSWALDO quiz ver o instrumento. Mostraram-lh'o: uma obra rustica, feita de taquaras e cousas toscas; na realidade, um objecto inesthetico, mas possuidor de uma alma que plangia sons harmoniosos, e todos os domingos pela manhãsinha, ás mãos do seu proprio auctor, fazia vibrar o coração simples dos crentes, tal como os orgãos ricos das cathedraes.

O Mestre ficou maravilhado. Quiz conhecer o artista. Apresentaram-lh'o. Era ainda mais rustico do que a obra—um individuo inculto que após longos annos de trabalho, mal visto e chacoteádo, só com o seu engenho e a sua fé conseguira emfim realizar o ideal de toda a sua vida: dotar a ermida de sua devoção um harmonium, para que a Nossa Senhora padroeira de sua terra, aquella mesma Santa de manto azul estrellado, tão bôa e tão milagrosa, tivesse como as outras imagens das basilicas opulentas a sua oblata de accordes melodiosos.

Não tinha dinheiro para compral-o? resolveu fazel-o. Escasseavam-lhe elementos para isso? Havia de fabrical-o assim mesmo. E fel-o. Era um homem! O nome, pouco importa. Possuia, porém, um cognome, um appellido popular que o definia e o glorificava: *Zé Orgueiro*.

O Mestre, a expensas suas, encaminhou Zé Orgueiro para o Rio, confiando-o ao Director do Instituto Nacional de

Musica, apresentando-o aos mestres da arte, para que burilassem aquelle bello bloco espiritual.

Ignoramos si o conseguiu. Parece que não.

Nem sempre os raios do sol penetram o amago das florestas virgens.

VIII—Dous homens

RODRIGUES ALVES foi uma dessas individualidades raras para quem não havia bôas nem más fórmas de governo.

Sem embargo do apreço devido aos doutos que consagram tanto saber e talento ao estudo theorico da governação dos povos, esse exemplo parece até certo ponto provar que as mais debatidas questões sociaes, no terreno da pratica, descem a um plano secundario quando os dirigentes teem as qualidades indispensaveis á sua alta missão. Aliáz, é isso mesmo o que affirma um philosopho da estatura de TH. RIBOT: « *Le succès et le revers d'un peuple ne depends pas de la forme de son gouvernement* »

Pois aquelle conselheiro, educado na rotina do antigo regime, foi a grande força propulsora das idéas e planos arrojados do joven OSWALDO CRUZ. Sem esse prestigio, talvez não se tivesse realizado até hoje o saneamento do Rio de Janeiro; e o nosso garboso Instituto não seria o que actualmente é, si o excelso Presidente não lhe vislumbrasse o deslumbrante futuro.

———

Não obstante o apoio firme que o Chefe do Poder Executivo dispensava ao Director da Saúde Publica, a campanha politica e jornalistica contra esta attingiu a tal ponto que RODRIGUES ALVES, incitado pelos proprios amigos, se viu na contingencia de chamar o hygienista e em termos ungidos de amizade pedir-lhe que, ao menos como uma satisfação ao publico, mandasse fazer algumas desinfecções pelos velhos processos, nos casos de febre amarella, sem comtudo abandonar os expurgos preconisados pela doutrina havaneza.

OSWALDO ficou por momentos pensativo. Depois, fitando tranquillamente o digno ancião, agradeceu-lhe a delicadeza do superior hierarchico que, podendo ordenar peremptoriamente a medida conciliatoria, como era de seu direito, preferia apresental-a sob a fórma delicada de um pedido; e terminou affirmando que a ordem seria cumprida sem tardança, bastando para isso que S. Exc. lhe nomeasse o substituto.

A um gesto negativo do Conselheiro, obtemperou o Mestre que era preciso attender a dois pontos de vista differentes, mas, de igual modo respeitaveis:

— De um lado, as exigencias politicas, talvez a estabilidade das instituições a imporem uma providencia anodina, mas opportuna. De outro lado, uma convicção scientifica arraigada, que não admitte transigencias, sob pena de deserção moral.

E concluiu pedindo-lhe insistentemente a exoneração.

Mas RODRIGUES ALVES negou-lh'a, auctorizando-o a perseverar nos seus processos prophylaticos.

Despediram-se cordialmente.

Ma! OSWALDO se retirou, ainda no topo das escadarias, disse o integro estadista a alguem que se lhe approximava:

— É impossivel que esse moço não tenha razão!

IX—Chefe de Escola.

Paraphraseando EUCLYDES DA CUNHA, que julgava ROOSEVELT o « maior philosopho pratico do seculo », tambem podemos considerar OSWALDO CRUZ como um dos grandes psychologos praticos da sua época.

Entretanto, o Mestre nunca estudou a sciencia do espirito; mas tinha, em compensação, o dom intuitivo de

conhecer os mysterios da alma humana, podendo assim seleccionar os auxiliares da sua confiança.

Foi isso, em grande parte, que lhe grangeou tanto prestigio entre os subordinados, na sua classe, em toda a sociedade.

Cada um dos seus coadjuvantes lhe merecia uma analyse rigorosa, realizada imperceptivelmente. Dotado de excepcional espirito de tolerancia perfeitamente humano, pensava que no homem, creatura sempre imperfeita, era bastante que as qualidades más fossem superadas pelas bôas. E esses predicados Elle sabia discriminar com muita precisão, chegando a minucias inacreditaveis, para depois reduzil-os a uma synthese que podia ser considerada como um retrato espiritual talhado por mão de mestre.

Na esphera administrativa essa admiravel capacidade teve azo de se revelar innumeras vezes.

Em Manguinhos ha um exemplo caracteristico.

Andava á procura de emprego um rapaz a cuja familia OSWALDO tributava especial sentimento de gratidão e amizade. Não havia ainda o cargo de bibliothecario do Instituto. O Mestre deu-lh'o. Mas o moço não soube corresponder aos desejos do amigo, mostrando-se tão inhabil que cahiu em pleno ridiculo e desprestigio. Naturalmente, todos extranhavam a excessiva complacencia do Director, sempre tão exigente e rigoroso. Este, porém, continuava impassivel até que, de subito, sem que ninguem esperasse, o joven desappareceu da «cidade dos livros» (que naquelle tempo funccionava provisoriamente n'um barracão de madeira) e surgiu em novo posto: no almoxarifado.

Foi uma transfiguração: o ultimo dos bibliothecarios passou a ser o primeiro dos almoxarifes. E hoje a sua prestigiada posição de thesoureiro representa um dos cargos de mais importancia na vida administrativa de Manguinhos.

———

Na alta esphera scientifica ia muito mais longe a penetração do psychologo, pois a investigação espiritual se aprofundou a ponto de caracterizar os diversos typos de intelligencia em todos os seus graus e especializações.

Nos ultimos tempos a sua tactica consistia mais ou menos no seguinte: acompanhava assiduamente o curso official do Instituto, cuidando de observar um por um os neophytos. Dentro em pouco o seu juizo estava feito. Excluidos os mediocres, ia fazendo a classificação dos mais aptos, segundo o pendor de cada um. Assim, por exemplo, este devia ser muito trabalhador e erudito, mas nunca teria originalidade; aquelle seria naturalista, mas sempre limitado ao circulo da systematica; n'aquel-l'outro estava o arcabouço de um futuro experimentador, capaz de perquirir complicados problemas vitaes.

No emtanto como bôm sociologo, Elle sabia que cada individuo deve ter sua missão a cumprir na communidade, e que só os egoistas e os fátuos pretendem encerrar dentro de si todos os predicados uteis e victoriosos. Com esse criterio de perfeita sabedoria, interessava-se condialmente pelos labores de seus auxiliares, incitando-os ao trabalho, incutindo-lhes fé e enthusiasmo, ainda quando fosse minusculo o objectivo scientifico e restricto o ambito intellectual do obreiro, porque sem essa febre vivificadora ninguem pode servir dignamente aos seus proprios ideaes.

Pois esse homem extraordinario, assim que conseguiu a primeira turma de discipulos sufficientemente versados em assumptos de laboratorio, tratou de fundar uma revista magnifica; mas desde esse dia nunca mais veiu á luz um trabalho original firmado por seu nome.

Qual teria sido o motivo que levou esse chefe de escola a subtrahir sua individualidade á evidencia dos prelios scientificos?

OSWALDO, provavelmente, imaginou que si concentrasse as suas forças com o fim de augmentar a sua producção intellectual, aureolando de novas conquistas exclusivamente o seu nome, certamente Elle serviria com fidelidade á sciencia, opulentando-lhe o patrimonio; entretanto, uma vez encerrado o cyclo da sua vida terrena, deixaria em pós a sua morte um pugillo de moços quasi todos de inneguavel valor, mas talvez desorientados, á mercê do primeiro golpe da adversidade. E como a idéa de morte prematura lhe era sempre presente ao espirito, Elle foi a pouco e pouco se deixando ficar no segundo plano, para que os seus companheiros caminhassem para a frente, cada um a fazer sua reputação á custa de pesquisas valiosas.

Não obstante, quasi todos os estudos assim elaborados recebiam a sua influencia benefica, embora muitas vezes o assumpto não lhe fôsse da especialidade. É que ninguem como Elle sabia entrever as causas de erro, as apparencias enganosas, as conclusões illogicas.

Todavia, é bem possivel que nem todos tenham sabido interpretar esse altruismo invulgarissimo, talvez não encontrado em muitos corações paternos, porque até mesmo entre pae e filho nem sempre se fala a mesma lingua, como tão elegantemente assignalou JULES LEMAITRE.

É possivel que nem todos tenham podido comprehender o sublime papel representado por esse mentor subtil, que pensava menos em si do que na gloria dos seus filhos intellectuaes.

É bem possivel que sim. Mas, si os houve, devem ter pertencido a uma das seguintes categorias: 1.—a dos cegos que não querem ver; 2.—a d'aquelles cujo espirito, segundo REMAN, é «*fermé á toute idée generale*», cuja intelligencia não vae além das cousas concretas.

Como quer que seja, OSWALDO foi um d'esses homens de visão illimitada, cujo horizonte mental alcançava os phenomenos mediatos, de preferencia aos immediatos, justificando exhubarentemente um dos conceitos mais profundos da brilhante psychologia de WILLIAM JAMES «*A toutes les epoques, l'homme qui subordonne son action aux fins les plus eloignées a paru posseder la plus haute intelligence*».

Além disso, ha sempre uma justiça eterna, superior ás bôas e ás más paixões, á qual compete enlaçar insensivelmente os homens e os factos para enfeixal-os, por fim, n'um julgamento definitivo. E essa já estabeleceu de modo irrevogavel que houve no Brasil uma escola-talvez mais do que isso: uma era— a que está para todo o sempre ligado o nome de OSWALDO CRUZ.

Assim tambem, para LATINO COELHO, o eximio exegeta da civilização hellenica, a era hippocratica é um monumento de saber humano, erguido por uma pleiade de sabios que se congregaram, para servir á sciencia, á sombra do vulto symbolico do «Pae da Medicina».

X—Uma sentença de morte.

Estavamos em principio de 1907.

N'aquelle anno, mais do que nunca, devia o carnaval ser animadissimo. Mal anoitecia, era um continuo e ensurdercedor rufar de zabumbas, pandeiros, recorecos, chocalhos e outros instrumentos que fazem o acompanhamento das cantorias plebeias.

Os *cordões* preparavam-se.

Ensaios sobre ensaios succediam-se infindaveis. Todas as noites, a mesma orchestração estrambotica e infernal annuciava pelos bairros a proxima chegada do deus bulhento e brejeiro. Promettia ser celebre a funçanata final.

Todos os annos, por essa occasião, apparecia n'um solar de Botafogo a figura retinta e sympathica de uum negro, ex-creado da familia. Era alli infallivel a sua presença afim de pedir aos antigos patrões alguma roupa, calçado, qualquer cousa, emfim, com que pudesse apresentar uma fantasia carnavalesca.

D'esta vez, a sorte parecia propicia ao folião. O creoulo arregalou os olhos de contente quando viu os paramentos que lhe deram. Fascinava-o, sobretudo, uma cartola reluzente, muito alta, em bôm estado, a qual iria a calhar com uma fatiota de *doutor, princez* ou *urubú*, assegurando-lhe uma proeminencia cobiçada entre os parceiros. Por isso JOÃO CONSTANTINO, agradecendo, partiu célere, com a alegria a lhe cantar no carão rude e sincero.

Mas não eram passados muitos minutos, eil-o de volta ao lar amigo. Sumira-se-lhe, porém, a alegria. E sem dizer palavra, saca da trouxa o chapeu alto que tanto o encantara.

Quedam-se todos ante a inesperada attitude do rapaz, que commovido levanta o fôrro da cartola e aponta ao fundo da mesma uma inscripção grosseira, a lapis:

†

Morto a bem do povo

13 de Novembro de 1904.

Passada a primeira impressão de estupor, que se desenhava em todos os semblantes, alguem lembrou e depois todos affirmaram que, com effeito, fôra essa a ultima vez que OSWALDO usára o historico chapeu que vinha revelar á familia aquella sentença traçada por mão mysteriosa no dia da conferencia no Ministerio do Interior para a leitura do regulamento da lei da vaccina obrigatoria, justamente na vespera do levante militar (*) contra o governo RODRIGUES ALVES.

XI—Jacintho.

Si EÇA DE QUEIROZ escrevesse em francez, seria um dos artistas mais celebres do mundo.

Entretanto, em Portugal e no Brasil, uma forte corrente literaria prefere esquecer o fulgor do estylista e todas as creações do psychologo para combater vehementemente o descuidado perpetrador de gallicismos e quejadas mazellas que macúlam a sua linguagem vibrante e luminosa.

Comtudo, esses mesmos quinhentistas do seculo XX acceitam como legitimos os vocabulos originarios do hespanol, do italiano e até os termos arabes que o duro dominio dos mouros impoz a golpes de cimitarra aos povos ibericos, ao passo que repellem com asco as expressões vivas e harmoniosas que expontaneamente, sem a minima coacção, não só nós como diversos povos adeantados vamos pedir á clareza e á finura do idioma de Molière.

É uma questão de gosto.

As linguas vivas, emquanto vivas forem, terão sempre, fatalmente, de permutar os seus valores; umas preferem fazel-o por bem, importando o que lhes paracer melhor; outras, ao contrario, só o consentirão por mal, a ferro e a fogo.

E os adeptos das duas escolas são irreconsiliaveis e muitas vezes aggressivos.

(*)—No livro "Conspirações" do general DANTAS BARRETO, encontra-se a narrativa resumida do motim militar de 14 de Novembro de 1904, por elle classificado de "mal esboçada comedia politica". Trata-se de um depoimento insuspeito, que devia ser lido e meditado pela officialidade de terra e mar. É pena, porém, que o auctor não tivesse aprofundado a *genesis* d'essa rebelião urdida por positivistas exaltados, explorada por aventureiros de varias categorias, servida por militares desviados do cumprimento dos deveres.

— EÇA, dizem os pardidarios da força, EÇA DE QUEIROZ escreve mal!

— Escrevem mal todos os grandes escriptores, affirma o diabolico ANATOLE FRANCE, cheio de malicia e verdade. E prova-o, e documenta-o.

— EÇA, gritam os homens do alfange, EÇA não conhece o vernaculo! Fulano, sim, é um mestre.

Na verdade, ao ler Fulano, temos a impressão de entrar n'uma sala de estylo classico, um desses estylos bem antigos que nos enchem de respeito e displicencia. Tudo é correcto e uniforme. E ao canto, á meza tambem classica, n'uma salva de prata pesada, em copos de puro crystal (tudo classico) uma virago «de tempos idos», encarquilhada e barbirostra, mas tambem muito classica, offerece-nos uma classica infusão de camomilla.

Com o EÇA já não se dá o mesmo. Os seus salões podem ser heterogeneos e cosmopolitas, mas são claros e alegres; seus objectos d'arte seriam talvez dignos de um *bric-á-brac*, mas são encantadores; seus crystaes não são, provavelmente, de primeira, porque elle era pobre; entretanto, quem nos aguarda em suas recepções festivas é uma jovem de belleza peregrina que nos delicia com um saboroso licor espiritual.

Pois foi esse artista quem creou JACINTHO, um dos typos mais bem talhados do romance moderno, JACINTHO, o supercivilizado heróe d'«A Cidade e as serras», o qual adquiria todas as producções do engenho humano com o só intuito de contribuir para o progresso da humanidade.

Pois foi JACINTHO a alcunha escolhida pela tribu manguinhense para dar ao Mestre, que lá no seu intimo não desadorava o gracejo.

Effectivamente, para o seu Instituto Elle queria o que houvesse de melhor no mundo.

E assim aconteceu.

Desde o subterraneo até as cupulas, desde os laboratorios até ás cavallariças, Manguinhos é uma complicação de machinismos, installações e pormenores architectonicos, que só após algum tempo de iniciação, um simples mortal é capaz de entender vagamente.

O aquecimento original da estufa de seccar vidros; a distillação de agua por meio de correntes de ar comprimido e mais a condensação dos vapores, etc.; as estufas aquecidas pela agua que serviu para resfriar o cylindro do motor a gaz; a recuperação do calor contido nos gazes de escapamento do motor; o relogio central electrico e a distribuição da mesma hora por todos os laboratorios e dependencias; a serie de balanças de precisão, cada qual mais aperfeiçoada; o apparelho que regista ao longe a temperatura dos quartos-estufas; os aquarios e piscinas de agua doce e salgada, tudo complicadissimo; o gigantesco microtomo, capaz de cortar em finas fatias um cerebro inteiro; a cortina que escurece o gabinete radiographico, obdecendo apenas a um botão electrico; o dictaphone onde se gravam os protocollos das autopsias; o impressor de endereços para a expedição das «Memorias do Instituto Oswaldo Cruz»; as «Memorias» com o seu texto em duas linguas e a riqueza das illustrações coloridas; a cinematographia dos microbios; os apparelhos centraes para a producção de ar sob pressão e vacuo, que são canalizados e distribuidos por todos os laboratorios; a opulencia da bibliotheca com os seus 4 andares de aço, toda illuminada por dentro, e os seus 40 mil volumes e as suas 1.000 revistas scientificas; a sala de leitura, (*) lindamente luxuosa, com as estalactites alvas a contrastarem com as admiraveis

(*)—Foi sob a direção do Dr. C. CHAGAS que se concluiram as obras da sala de leitura, do museu, do hospital, etc.

obras de madeira; o bellissimo e rico museu; o hospital com uma installação resfriadora a 25ºC., de modo que os doentes não soffrerão calor; a chave magica que abre todas as portas, embora de fechaduras differentes; a porta que apaga ou accende a illuminação electrica da sala das semeaduras; o edemico refeitorio, cuja columna de sustentação é uma bella arvore frondente, toda florida de trepadeiras e orchidéas; por fim, o estylo rebuscado do edificio e mais as mil maravilhas e surprezas desse sitio encantado excedem a toda e qualquer concepção jacinthica.

Pois, apezar de tudo, o nosso JACINTHO premeditava sempre novas jacinthadas e se entristecia quando lhe faltavam meios para executal-as.

*
* *

Fazendo abstracção das tres grandes descobertas do Instituto, as quaes continuam a ser, em ordem chronologica: a vaccina contra o cabunculo symptomatico *(peste da manqueira dos bezerros)*, o cyclo evolutivo do halteridio dos pombos, e a doença de Carlos Chagas; excluindo o periodo de installação, em que aliáz se elaboraram magnificos trabalhos sobre a Peste,—podemos talvez dividir a evolução scientifica de Manguinhos em 7 phases principaes:

1ª.—hematologica.
2ª.—entomologica.
3ª.—protozoologica.
4ª.—helminthologica.
5ª.—mycologica.
6ª.—anatomo-pathologica.
7ª.—chimico-therapica.

(Que os doutos collegas nos desculpem a ousadia com que ja vamos reduzindo a simples estratificação os fructos dos seus apreciados estudos, alguns dos quaes, para evitar prolixidade, não puderam ser aqui incluidos).

———

Estavamos em pleno periodo hematologico.

No ardor da mocidade e das exagerações proprias das novas doutrinas, pensava-se que o só exame de sangue seria capaz de resolver todos os problemas do diagnostico e do prognostico. Reunido um pequeno capitulo da confraria dos cata-globulos, ficou definitivamente estabelecido que o principal elemento sanguineo-a hemoglobina-não possuia um processo de dosagem acceitavel, porquanto esta se fazia e ainda hoje se faz grosseiramente, por meio de padrões colorimetricos, sujeitos, além disso, á variabilidade visual dos differentes observadores, conforme ficou provado.

— Nesse caso, alvitrou o Mestre, é preciso que se ache outro processo capaz de substituir os que acabam de ser condemnados.

— Perfeitamente, responde um dos rapazes. Ha um apparelho que dosa rigorosamente a hemoglobina através do ferro que esta contém: é o ferrometro.

— Mas é garantido?

— Não pode deixar de ser; a base é a mais segura possivel.

— Então compre-se o ferrometro, deliberou o Director.

Lá foi a encommenda para a Europa.

Demorou, mas um dia veiu o apparelho anciosamente esperado. Custou caro, mas tinha uma caixa tão grande e bonita que com certeza havia de ser uma das maravilhas da sciencia.

Montado, tudo em ordem, entra em funcção o ferrometro de accôrdo com as regras do prospecto. Mas, afinal, depois de muito virar e mexer, o producto a dozar é levado a um colorimetro quasi em identicas condições ás das que acompanham os hemometros communs, condemnados pela referida collegiada de hematologos.

O ferrometro era um *bluff*.

Foi, porém, uma das rarissimas jacinthadas sem sorte.

XII—Sabe com quem está falando?.

Quando RODRIGUES ALVES deixou o governo, todos os seus principaes auxiliares foram acompanhal-o até Guaratinguetá, sua cidade natal.

Na estação, por entre os figurões que se comprimiam em redor do glorioso ex-presidente, reinava certa balburdia. Todavia, o especial partiu á hora aprazada, e exactamente nesse momento um cidadão retardatario tomou o comboio, dirigindo-se para o interior de um dos carros. Ao vêl-o, o chefe de trem advertiu-o de que alli não havia logar para intrusos, e sem mais delongas fechou-lhe a porta, deixando-o do lado de fóra.

Passado algum tempo, por méro accaso, um dos graudos viajantes encontrou de pé, na platafórma do vagão, aquelle vulto que não lhe era de todo desconhecido. Approximando-se, reconheceu-o:

— O Sr. aqui?

E correu a chamar o chefe de trem, exprobrando-lhe a desconsideração feita a uma das figuras mais eminentes do quadrienio findo.

Humilde, tremulo, o funccionario desfez-se em desculpas, affirmando que não conhecia pessoalmente o Dr. OSWALDO CRUZ. Este, porém, tranquillisou o pobre homem, felicitando-o pelo cumprimento do dever, pois o unico culpado daquella situação era Elle proprio, que não havia trazido as crendenciaes necessarias para a entrada no especial de luxo.

XIII—O Beijo da Gloria.

No porto, atracado ao novo caes, um grande transatlantico.

O tempo é propicio aos passageiros, que veem encontrar um sol radioso e brando a sobredourar os encantos da terra. Por sua vez, a mão do homem havia alindado uma bôa parte da cidade outr'ora tão feia e suja. E o « vomito negro » que tanto horror espalhara nessas formosas paragens, já agora desapparecera da nossa Capital, onde durante meio seculo se acoitara.

Tudo convida á delicia dos passeios. A bordo ninguem permanece, ninguem perde um instante; todos ávidos de attractivos e sensações.

No caes o movimento é excessivo. Os automoveis, n'um continuo vae-vem, levam e trazem a flôr da sociedade; senhoras esbeltissimas, com a indizivel graça da mulher brasileira; cavalheiros imponentes nos seus trajes impeccaveis; jovens diplomatas pródigos de mesuras; emfim, um conjuncto de gente fina e feliz.

Dentre os que compõem o vistoso ramalhete mundano, destaca-se uma figura sympathica de septuagenario extrangeiro, a quem não faltam homenagens da nata social. O ancião vem receber alguns compatriotas aos quaes dispensa acolhida affectuosa, prestando-se a acompanhal-os nas excursões do ritual dos *touristes*. Mas estes já conhecem todas as bellezas classicas do Rio e por isso não chegam a accôrdo com relação ao itinerario. Entretanto, sem destino certo, lá se vão accommodando n'um automovel confortavel. Continua, porém, o dissidio, porque cada qual deseja tomar uma direcção differente. Alguem, todavia, lembra que deve haver algo *por descobrir* para os lados suburbanos, onde ainda existem vestigios da cidade antiga e de suas tradições.

Segue o carro ao longo dos impervios caminhos da *banlieue* carioca, chegando ás proximidades da estrada real de Santa Cruz, testemunha discreta das cavalgadas nocturnas de D. PEDRO I.

Aqui e alli, intercallando-se á paisagem modorrenta, alguns casebres tristes e miseraveis. Não podem ser gratos aos excursionistas esses aspectos de pobreza e melancholia. Já se fez sentir a necessidade de mudar o rumo do infeliz

passeio, quando alguem aponta estupefacto o vulto ainda longiquo de um edificio magestoso.

— Que será?

Ninguem sabe responder.

Assentam-se os binoculos, que até então jaziam inuteis a tiracollo.

O facto é que nenhum dos forasteiros atina com o que póde ser aquelle palacio encantado no meio da charneca. O *chauffeur*, tambem extrangeiro e recemchegado, desconhece-o. E o proprio *cicerone*, ha pouco investido de altas funcções plenipotenciarias, esse só tinha na memoria lembranças da cidade pestilenta que visitara em caracter festivamente official durante o governo CAMPOS SALLES.

Assim, uma ponta de curiosidade começa a picar o espirito dos itinerantes. Resolvem proseguir. Já passam insensiveis os socavões da pessima estrada. De nariz para cima, excitados, todos reclamam a solução do inesperado problema que lhes aguça o senso artistico.

Mas nesse comenos o automobilista pretexta difficuldades e deseja regressar ao centro da cidade. Os viajantes, porém, a nada attendem e exigem a continuação da jornada, até que pelo menos se approximem do soberbo castello que já deixa perceber aos conhecedores as linhas architectonicas do seu estylo.

— Dir-se-ia que andamos por terras de Hespanha, lembra uma das senhoras.

No emtanto, o homem do automovel dá por intransponivel a má estrada. Não se expõe a perder o ultimo pneumatico que lhe resta. Os passageiros, porém, lhe impõem o proseguimento. Difficuldades, hesitações tudo vae de vencida. Só reina um desejo incontido: esquadrinhar aquella obra d'arte, ignorada, perdida n'um triste rincão suburbano.

Por fim, o *landaulet* deslisa nas alamedas primitivas da propriedade rural e chega ás portas do monumento.

Curioso contraste: ao emvez do silencio em que jazem todas aquellas redondezas, alli, no castello magico, tudo é trabalho e movimento. É uma colméia humana installada nas magnificencias de um palacio. Desde o porão do edificio, onde rangem usinas electricas e apparelhos complicados; desde as cavallariças luxuosas, onde relincham numerosos animaes nutridos,—tudo, até aos andares superiores onde palpita intensa vida intellectual, tudo contrasta com a monotonia dos paúes visinhos e a placidez do mar que vem morrer em salsugem no longiquo reconcavo.

Tudo isso pasma e confunde os observadores.

Cautelosos, delicados, miram ainda á certa distancia e explendor da construcção. Lê-se-lhes nos olhos o suave prazer que só sabem fruir as almas dotadas de natural pendor artistico ou educadas no requinte das velhas civilizações.

Ao pessoal da casa já não passa despercebida a chegada dos curiosos. Precisamente áquella hora, vae partir um carrinho rustico, cheio de rapazes alegres e palradores. Um destes é chamado com urgencia e logo de relance reconhece entre as visitas um nome bemquisto na politica internacional do A B C.

Os recemvindos sobem com todas as honras as escadarias do Instituto « Oswaldo Cruz ».

———

Do selecto grupo distingue-se uma singular figura de mulher, que ora caminha na vanguarda a colher novas emoções, ora se detem enlevada a perquirir pormenores architectonicos.

— *C'est du style mauresque très pur!* affirma ella embevecida.

Era uma alma de artista. Com naturalidade deixou descerrar-se um véo de modestia que mal lhe podia velar o espirito scintillante. Fallava correctamente francez e hespanhol, além da sua lingua patria-a romena; não desconhecia

o inglez; e revelou conhecimentos de allemão, ao lhe ser apresentado um professor tedesco que se achava em Manguinhos. Tinha-se a impressão de que ao seu entendimento nada era vedado. E, finalmente, para coroar tudo isso, um typo de belleza classica. Não desses typos que alguns homens olham com maus olhos. Ao contrario; a educação, os ornamentos espirituaes, o respeito de si mesma e até a propria perfeição plastica a erguiam n'um pedestral não attingido pelos assomos dos ousados. Emfim, si não lhe bastasse esse raro conjuncto de predicados, teria ella ainda a resguardal-a umas lindas madeixas brancas que lhe cingiam a fronte pensadora.

———

A visita está a findar no pavimento superior. No terraço todos se debruçam melhor gozar o bellissimo horizonte que se descortina em todos os quadrantes.

O dia vae morrendo. Uma sombra doce e tranquilla pervaga lentamente pelos campos e morros silenciosos; e além, agonizante, o explendoroso sol brasileiro a se desvanecer na orgia polychromica do seu estupendo funeral.

O quadro é realmente empolgante.

Mas já agora os dignos extrangeiros não teem apenas a gabar a nossa decantada *naturaleza*. Alongando vista, entreveem a cidade bella, palpitante, saneada. A seus pés, o grande Instituto nacional.

Dous sonhos realisados, a um só tempo, pelo mesmo homem!

Por isso, dos labios dessa dama singular, vinda de longes terras, d'essa mysteriosa figura feminina—um tanto de deusa antiga e outro tanto de mulher—parece partir um beijo immaterial e puro, desses que glorificam para todo o sempre a vida de um heroe.

XIV—Depois da Tormenta.

Do obituario havia desapparecido a quota com que a febre amarella se habituára a contribuir.

Após o trabalho do dia, aproveitando um momento de bom humor, conversam a sós dous homens que tinham pelejado rudemente durante a refrega.

— Aqui, entre nós, agora que está tudo acabado e que a victoria é sua: Você foi de uma temeridade inaudita!

— Porque?

— Pois Você, logo de começo, tendo contra si a imprensa, a politica, a opinião publica; sem a solidariedade da classe medica, nem a convicção dos seus auxiliares; tratando-se, emfim, de uma doutrina muito nova, mal conhecida, Você, inteiramente só, assumir um compromisso daquella ordem e, ainda por cima, com o prazo improrogavel de 3 annos!...

— E que tem isso?

— Você se arriscou muito.

— Ora, meu caro, si a doutrina fosse erronea, nem em 3, nem em 30, nem em 300 annos daria resultado. Mas eu tinha certeza da victoria.

— Perfeitamente. No emtanto, como tudo neste mundo é fallivel, si Você perdesse a partida?

— Então, PEDROSO, Você accredita que eu seria capaz de sobreviver a tal fracasso?

XV—Trabalho e Justiça.

Quando verificou que a sua campanha prophylatica estava em caminho da victoria, OSWALDO pensou n'uma grande remodelação sanitaria que abrangesse todo o paiz, especialmente os portos do nosso extenso litoral, quasi sempre á mercê de invasões epidemicas. Tratou, pois, de colligir os dados para esse grandioso trabalho, emprehendendo uma viagem exhaustiva e incommoda ao longo toda a costa brasileira e dos principaes rios navegaveis, embarcando para isso, em companhia do Dr. J. PEDROSO, no « Republica », vaporzinho de pequeno ca-

lado, pouco maior do que um rebocador.

Foi uma excursão penosissima para quem, como Elle, enjoava até vomitar sangue, conforme o grau de agitação do navio. Não obstante, seguiu o seu roteiro, sem supprimir uma só parte do itinerario previamente traçado.

Para o cabal comprimento da sua missão levou comsigo tudo que lhe parecia necessario, inclusivamente um completo laboratorio ambulante.

Esqueceu-lhe, porém, uma cousa: os discursos. E por sua desdita rara foi a capital que não o mimoseou com um banquete obrigado a brindes de circumstancia. Isso para Elle consistia em duro sacrificio, porque ninguem mais refractario á arte oratoria. Emfim, cumpria resignadamente o seu fadario, agradecendo no intimo a sinceridade das homenagens, apreciando a eloquencia dos bons tribunos. Mas quando lhe tocava a vez de « deitar o verbo », quando maior era a anciedade dos convivas por ouvir a palavra do sabio, este se erguia da cadeira, proferindo singelamente, invariavelmente, a seguinte oração:

— Meus senhores, agradeço-lhes sinceramente a homenagem que acabam de me prestar.

E sentava-se.

Quando, porém, se fazia mister enunciar uma idéa de real utilidade, sabia achar meios de apresental-a, a despeito do seu costumado laconismo.

Um exemplo disso foi o seu discurso de posse na Directoria de Saúde Publica, no qual resumiu em duas palavras um bello programma administrativo: « Trabalho e Justiça »,

Effectivamente, quasi toda a vida publica d'esse homem parece que se firmára n'essas duas columnas.

***

Outras peças oratorias, muito fugiram á sua sobriedade verbal.

Está n'esse caso o discurso na Academia Brasileira de Letras, no qual se lhe azou ensejo de entoar um hymno á justiça humana encarnada na pessôa do «bôm juiz» que era o poeta RAYMUNDO CORREA. E uma pagina de encantador e forte optimismo, em que, procurando realçar o caracter peregrino e a delicadissima sensibilidade do seu antecessor no referido areopago, o Mestre, sem o querer subconscientemente, foi decalcando a sua propria alma, irmã gemea da do excelso cantor das « Symphonias ».

Abramos alas, respeitosamente a um dos mais profundos trechos do nobre pensador:

« Foi para RAYMUNDO CORREA enorme tortura quando certa reforma judiciaria veiu estabelecer o julgamento de alguns crimes pelos juizes singulares. Teria, por si só, de resolver da sorte e da liberdade de individuos, visto que fôra investido das funcções de pretor, a quem competiam julgamentos tais. O menor pleito judiciario era para elle verdadeiro caso de consiencia. Pesava todas as circumstancias, procurando sempre se apagar áquellas que fossem atenuantes, quando não podia encontral-as dirimentes. Sabia pelo estudo da historia da criminologia, que as provas materiais, mesmo as que parecem mais nitidas, mais eloquentes, podem não valer cousa alguma. Sciente estava que seu julgamento podia, sinão destruir a vida, ao menos aniquilar a honra de um individuo, ou, o que é mais, de uma familia. Quando tinha de se pronunciar de modo categorico, o nosso *bom juiz* soffria, torturava-se e sempre que possivel era, absolvia o reu. Naturalmente, si assim o fazia, é que, mesmo nos casos patentes de crime, se tinha podido apegar a uma dessas nugas que a pragmatica forense exige, e cuja não observancia pode tornar nulo o processo ou insubsistente a acção judicial. As ajitações intimas que se desencadeiavam no cerebro e coração de RAYMUNDO COR-

REA eram verdadeiras procellas. Muitas vezes, a razão votava condemnando, mas o coração absolvia e nesta difficilima conjectura, em que espiritos menos perfeitos vacillaram em se resolver ou pelo cerebro ou pelo coração, o nosso juiz encontrou a formula verdadeiramente milagrosa, ditada pelo coração com pleno assentimento da razão e que deve servir de norma, de roteiro para aquelles que têm de exercer o difficilimo mistér de julgar e punir. RAYMUNDO CORREA, com sua inteligencia primorosa com sua cultura juridica perfeita, sabendo a fundo o valor das leis, o porquê e para que foram ellas feitas, pensou—e pensou muito bem—que o juiz não deve ser um automato, que se não deve cingir exclusivamente ao texto escripto, senão interpretar e applicar, com inteligencia e bondade ao caso concreto as disposições legais correlatas.

Assim, pensava que o castigo, a punição e o publico vexame só valiam como taes. Para certos espiritos, essas medidas eram contraproducentes; obrigavam a seguir sempre pelo caminho do mal, individuos que, dotados de bôm temperamento, foram victimas de reflexo de momento, que fez com que incidissem em penalidades dos codigos, tornando-os eventualmente delituósos. Ora, observou RAYMUNDO CORREA, conhecedor como como era da psychologia humana, que para taes pessôas mais valia que se lhes reconhecendo o crime, não se lhes desse o publico castigo, a que tinham feito jús, segundo a lei escripta. Absolvia. Com um appello em regra aos bons sentimentos que restavam, e, por vezes, sobravam, entregava o criminoso de novo á sociedade, cobrindo-o com o veu protector da bondade. Com o estimulo que fazia aos bons sentimentos, despertava-os e, assim acariciado, e preso pela gratidão, fazia bôm e util tal individuo, que num desvario de momento se tornara criminoso, ou tal outro, que mal orientado na vida, sem o apoio de palavra ou conselho amigo se constituira, quasi incientemente culpado, ou ainda aquelle que, victima da injustiça humano, se fazia criminoso por vindita contra uma sociedada toda cheia de falhas e que se arvora em puritana para torturar os infelizes que, por desgraça momentanea ou pelo mau entender do que seja a moral social, se tornaram criminosos. Em casos tais, RAYMUNDO CORREA absolvia ainda. Dada, porém, a liberdade em publico e para o publico, chamava em particular o delinquente a seu gabinete e, portas a dentro, a sós, com os ferrolhos corridos, sem testemunhas, exprobava forte e dolorosamente o criminoso, mostrava-lhe as bases fundadas que tinha para condemnal-o e, com a lojica acolchoada de bondade, com a sua palavra meiga, com seu espirito de poeta, fazia um pedido, solicitava, implorava ao infeliz que abandonasse o máu trilho em que se metêra. Dizia que lhe déra a liberdade em troca da promessa formal, que estava certo de obter, de que não reincidiria na culpa e que se tornaria cidadão prestavel. Acabava sempre solicitando que não consentisse que a sociedade o acoimasse, a elle, de juiz injusto e máu, que abria as prisões para soltar no seio da sociedade os criminosos, quais outras *féras* destinadas a destruil-a. E os argumentos calavam fundo e, não raro, as lagrimas que corriam aos pares dos quatro olhos que se fitavam eram o sêlo do pacto que tacitamente se firmava... e a sociedade lucrava um elemento são que a ella de novo se assimilava como quantidade util e productiva, e o juiz sentia o indizivel prazer do dever cumprido, satisfazendo plenamente sua conciencia, ao passo que o coração se dilatava concio de ter effectuado obra meritoria.

E assim eram os julgamentos de RAYMUNDO CORREA.

É indubitavel que não faltam espiritos irredutiveis que julgam que a espada de Themis deve ser massiça, pe-

zada e inflexivel, que não pode ter a maleabilidade do florete, que é preciso ferir sempre fundo no coração e não pode provocar arranhadura compativel com a conciliação. Espiritos ha que pensam que o crime, quando crime existe, só encontra remedio nos formularios dos codigos e que só estes são capazes de trazer a cura para essa molestia social. Se assim fosse, não havia mistér de juizes. Bastava que se encommendasse ao inexgotavel genio inventivo dos Americanos do Norte certa machina, destinada a fazer julgamentos, e em que se entrasse com o facto erguido de criminoso e os artigos do codigo. Qualquer operario boçal daria á manivela e a pena seria distribuida pelas entrósas do machinismo.

Não é essa a funcção do Juiz e nem ha codigo possivel que pretenda encarar todas as faces do problema, tão multifaria é a psychologia humana. Os codigos são sómente instrumentos grosseiros para avaliar os phenomenos psychologicos. Devem conseguir as ocillações maxima e minima a que póde ser levado o espirito do Juiz, mas não devem constituir apparelho de precisão para medir delitos e distribuir justiça. Os remedios que aconselham, por mais anódinos que pareçam, são por vezes recursos ultimos e ainda muito grosseiros e de que os Juizes só devem lançar mão como medidas supremas e que, praticamente, devem dormir na gaveta dos que julgam. A persuasão, as bôas palavras, a convicção, a tolerancia bem entendida e ampla, o exemplo e a justiça que na balança de julgamento use como peso a bondade e a clemencia, collocando-se sempre, no julgar, o Juiz na posição do réu, eis as bôas normas que devem seguir aquelles a quem é confiada a dificilima tarefa de julgar, e a mais dificil ainda de punir.

Esse modo de encarar a justiça no julgamento das culpas, quando abandonado, deu por vezes lugar a resultados verdadeiramente desastrosos. Se folhermos a colletanea criminologica, vemos que muitos dos criminosos celebres se tornarem tais como represalia á injustiça de que foram victimas por occasião da primeira culpa. Muitas vezes era esta perfeitamente justificavel e sobre ella bem se poderia deixar cair o esquecimento. Assim, menos criminosos e mais homens proveitosos haveria na sociedade. O typo do « Plumitas » o bandido celebre, temor da Hespanha, tão bem estudado por Blasco Ibañez em seu livro *Sangre y Arena*, é um desses monstros sociaes, filhos da injustiça humana. O genial VICTOR HUGO encarna na figura sympatica do tão bôm quão infeliz JEAN VALGEAN a victima dos juizes que só julgam pela razão. Essa maneira de interpretar a Justiça concretizou HUGO ainda na figura mesquinha, de horizontes limitados, do impoluto executor da Justiça humana, JAVERT, que preferiu a morte a analysar á luz serena da bondade e decisão dos Tribunais que condemnou ao carcere *aquelle que furtou um pão.*

De monstros, filhos da maneira ilojica de distribuir a Justiça, estiveram e estão ainda cheios os sertões de nosso paiz.

Os sertanejos honestos, de hontem, hoje cangaceiros criminosos, por vingança, acham por ignorancia de nossa moral social, que castigar o individuo que os injuriou é acto meritorio, não passivel de pena. Punidos, preferem romper com a sociedade e se tornarem bandidos. Assim surjiram o JESUINO BRILHANTE e o famijerado JOSÉ ANTONIO, do Fechado, no Ceará, e o terror actual dos nortistas, ANTONIO SILVINO, que ainda hoje rega de sangue os sertões adustos dos resequidos Estados do Norte do Brasil. O ponto de partida da vida ensanguentada dos cangaceiros foi quasi sempre um desses rigores mal interpretados na applicação da justiça em crime inicial, passivel de tratamento

que entre nós instituiu o juiz-poeta, que foi RAYMUNDO CORREA, que tão bem soube aliar os dictames da razão aos do coração, sem subordinar um ao outro.

Com a pratica desses sãos principios as penitenciarias teriam menos habitantes e a sociedade lucraria outros tantos elementos de utilidade... Quando muito, haveria mistér de mais alguns logares nos manicomios:—são os casos incuraveis.

As idéas directrizes dessas considerações já impressionaram certos paizes, como a França, que fez incluir nas suas leis a denominada *lei Béranger*, que só dá a condemnaçãoo moral sem exigir o cumprimento da pena aos que, gozando de bons antecedentes, commetteram a primeira falta. É o reconhecimento, de um lado, da falibilidade da Justiça humana, e de outro lado, da confiança no estimulo ás forças de rejeneração de caracter dos culpados.

As consequencias praticas desta benefica lei não têm ainda o alcance consideravel da solução que ao problema deu entre nós RAYMUNDO CORREA, que absolvia publicamente e condemnava em segredo e juntava, assim, no seu condemnado todos os sentimentos intimos e esparsos que formam o *brio* e oblinha a cura do seu doente moral.

Naturalmente, o systema de therapeutica juridica de RAYMUNDO CORREA não póde ser consubstanciado em lei, é uma acção personalissima: o remedio é o Juiz. Seria necessario que desapparecesse: 1º o julgamento pelas celectividades como o «jury»—theoricamente instituição admiravel, na pratica pessima; 2º que todos os julgamentos fossem feitos por juizes singulares que deviam pautar seu proceder pelo do inovidavel Juiz que foi RAYMUNDO CORREA, o medico leigo dos espiritos, que mais fez, absolvendo, que os outros condemnando».

***

Tambem a OSWALDO, por entre as formidaveis luctas da sua vida publica, se antolhava sempre opportunidade de exercer as funcções de «bôm juiz».

Cada companheiro, cada subordinado, cada servente encontrava no Chefe o espirito de justiça que Elle instinctivamente soube descobrir em RAYMUNDO CORREA, embora nunca o tivesse conhecido pessoalmente. Estão vivos, felizmente, quasi todos os seus collaboradores, altos e humildes, que podem ainda rememorar com saudades a acção justa e meiga, os conselhos paternaes do censor discreto e amigo que em toda a sua carreira administrativa só uma vez se viu forçado a demittir a bem do serviço publico um infeliz funccionario prevaricador contra quem se accumularam provas e documentos insophismaveis. E foi esse um dos seus dias mais tristes, porque, com toda aquella apparencia de Director severo, no intimo não passava de um coração profundamente humano, que acreditava na regeneração dos máus e tinha sempre o perdão facil para as creaturas inditosas.

Em Manguinhos é bastante conhecido o caso de um serventuario que fôra outr'ora um ebrio quasi desclassificado, um typo turbulento e perigoso, sempre armado e aggressivo, a ameaçar a paz da visinhança. OSWALDO, contra o consenso geral, chamou-o para perto de si, deu-lhe commissões de confiança, exhortando-o com palavras bondosas ao cumprimento dos deveres de homem de bem.

Jamais se viu transformação maior. O que o chanfalho policial, os termos de bem viver, os processos judiciaes nunca conseguiram em muitos annos, alcançou-o em poucos mezes o coração do Mestre. E esse rapaz obscuro, mas intelligentissimo, é actualmente um digno chefe de familia, funccionario irrepre-

hensivel e até pequeno proprietario. Deixou para sempre o vicio e as armas prohibida. Estas só em uma unica hypothese teria sido capaz de retomal-as: em defeza do seu bemfeitor.

Quem estiver ao par da historia de Manguinhos e da Directoria da Saúde Publica poderá relatar não um, mas diversos episodios comprobantes dessa extraordinaria capacidade de restaurar caracteres, a qual era talvez a virtude dignificante do Mestre.

No emtanto, um homem d'esses, que contava com tantas e tão extremadas abnegações e ao mesmo tempo tinha a vida constantemente ameaçada, esse chefe só achava uma difficuldade por parte de certos amigos: convencel-os de que a cabeça de seus inimigos, por mais ignobeis que fossem, era ainda mais sagrada do que a d'Elle proprio.

———

N'uma esphera mais elevada, entre os chamados intellectuaes, não era menor a sua influencia bemfazeja. Bohemios incorrigiveis, doutores ignorantões, jovens apathicos, emfim, uma serie de vencidos, fadados á obscuridade e talvez ao mal, receberam a acção galvanizante d'esse magico, tornando-se scientistas, administradores, profissionaes de comprovada habilidade, cidadãos prestantes. Por isso, um espirito finamente observador impressionado com a radical metamorphose de alguns moços manguinhenses, costumava dizer que o Instituto não era apenas uma casa de sciencia, senão tambem uma escola correccional.

De facto: para as sentenças magnanimas de RAYMUNDO CORREA só mesmo a caroavel penitenciaria de OSWALDO CRUZ.

———

Ninguem poderá negar que uma das cousas mais sublimes d'este mundo é o sentimento de justiça, que tão raramente exorna um ou outro ser predestinado.

Agora imagine-se que qualificativos devem ser conferidos a esse mesmo sentimento, quando a justiça é severamente applicada ao proprio individuo que a possue, isto é, ao juiz de si mesmo...

Exemplifiquemos:

Estava fundado o Instituto Oswaldo Cruz; jaziam por terra a febre amarella e a peste; já o Congresso de Hygiene de Berlim havia pronunciado o inappellavel *veredictum* que outorgava ao Mestre o titulo de primeiro hygienista do seu tempo; e até a mesma imprensa carioca, outr'ora tão furibunda, só tinha blandicias para o nome do grande saneador.

Senão quando uma voz dissonante surgiu a quebrar a monotonia d'essa unanimidade louvaminheira.

Em vez de seguir os processos de DIDEROT, o creador « *de la critique des beautés, qu'il substitua à celle des defauts* », conforme refere SAINTE-BEUVE, em vez disso, alguem houve que, escabichando a cultura do sabio, topou uma falha gravissima: OSWALDO não sabia portuguez.

Outro qualquer, por muito menos, faria como o celebre arce-bispo de Granada com o pobre do Gil Braz de Santilhana. O Mestre não. Quando essa noticia lhe chegou ao conhecimento, Elle por instantes ficou perplexo. Mas logo após, recolhendo serenamente á sua torre de justiça, analysando a subtanea objurgatoria, consultando a propria consciencia, sopesando os elementos de accusação e os de defeza, despojando-se dos seus louros immarcessiveis, sentando-se no banco dos réus ao mesmo tempo que se revestia das insignias de juiz concluiu de si para comsigo que, na verdade, não sabia sufficientemente a sua lingua.

Poderia, si quizesse, recorrer ás attenuantes, que as tinha em profusão, porque o tempo consagrado á sciencia,

ás linguas extrangeiras e, sobretudo, ao bem do proximo não lhe sobejára para as caturrices philologicas. Não, nada de attenuantes para si. Sua condemnação havia de ser formal, rigorosa, com trabalhos forçados: condemnou-se a estudar portuguez. E desde esse dia não teve descanco emquanto não saneou os seus conhecimentos de vernaculo.

XVI—Oswaldo e Balzac.

Foi o creador da « Engenie Grandet » quem, talvez, melhor definiu a gloria. Propriamente, não a definiu, mas exemplificou, o que é preferivel e quasi sempre mais acertado.

— *La gloire* (dizia elle) *a qui en parlez-vous? Je l'ai connue, je l'ai vue.*

E narrava com especial sabor que, viajando na Russia elle e alguns compatriotas, surprehendidos pela noite, resolveram pedir hospitalidade n'um castello, onde foram todos acolhidos com a sympathia que outr'ora os russos prodigalizavam aos francezes.

Immediatamente, uma das fidalgas foi em pessôa ao interior do palacio buscar alguma cousa para matar a sêde aos viandantes.

Entrementes, os recem-vindos dão-se aconhecer e palestram com animação, quando a amavel dama reapparece trazendo em suas lindas mãos patricias uma bandeja com tudo que havia de melhor na adega. Mas precisamente nesse momento ella ouve a castellã dirigir-se a um dos forasteiros:

— *Eh bien! Monsieur de Balzac, vous pensez donc...*

Tal a surpreza, tal a emoção da aristrocrata que ella deixa cahir e quebrar-se a rica bandeja com os finos crystaes e tudo que n'esta se continha.

— *N'est-ce pas la gloire?*—concluia sorrindo o psychologo de « *La femme de trente ans* ».

⁂

Tambem OSWALDO, n'uma excursão pelo interior de Minas, ao passar por uma fazenda, resolve pedir uma hora de sombra e repouso.

Recebem-n'o cordialmente. E, como é de praxe, servem-lhe o bôm café, symbolo da hospitalidade sertaneja. Mas não consta que alguem tenha deixado cair a salva das chicaras, como faria qualquer archiduqueza russa. É certo, porém, que a dona da casa, ao saber que tem sob o seu tecto o grande brasileiro, corre aos seus aposentos trazendo um nedio e bochechudo pimpolho, apresentando-o, cheia de orgulho e felicidade:

— Meu filho. Chama-se OSWALDO... por sua causa...

N'est-ce pas la gloire?

XVII—O Artista.

> "Da sciencia, que investiga o homem e a natureza, não é difficil a transição para a arte, que realiza no mundo sensivel e exterior o conceito subjectivo do bello".
> Latino Coelho.

DARWIN confessou com extraordinaria franqueza que, depois de ter tido na juventude certo gosto pelas artes, acabou por perdel-o totalmente, a ponto de seu cerebro se transformar n'uma especie de machina para extrahir leis geraes de um bloco enorme de factos. E disse que, si tivesse de recomeçar a vida, assumiria comsigo mesmo o compromisso de uma vez por semana ler um poema qualquer, ou ouvir um pouco de musica, por acreditar que esses prazeres constituem uma felicidade e a sua perda prejudica provavelmente a intelligencia, o caracter e a capacidade emocional da natureza humana.

Parece que não são muito raros os individuos que se caracterizam por um exaggerado exclusivismo intellectual, porque é sabido que a hypertrophia de certas zonas cerebraes muito trabalhadas se faz acompanhar, frequentemente, da

atrophia de outras que não o são, em conformidade com um principio geral de physiologia.

A biologia com todas as suas especialidades, a mathematica, emfim, todas as sciencias e tambem as artes costumam ter cultores que vivem hermeticamente fechados no circulo dos seus pensamentos, das suas idéas fixas. Quasi sempre são homens de valor, dentro das profissões, mas, fóra d'ahi, para elles o mundo não existe; tornam-se por isso creaturas antipathicas, sem amigos sinceros, isolados em plena communhão social.

É, portanto, significativa e commovente a confissão do immortal sabio inglez, cuja franqueza tão pura quanto o seu genio soube traduzir fielmente o arrependimento do ancião que viu morrerem dentro de si, um a um, todos os sentimentos artisticos, as sensações suaves que amenizam a existencia dignificando a alma.

Que a advertencia partida de tão alto aproveite a alguns jovens especialistas que estão sempre a olhar com desdem as lucubrações alheias e por isso sempre a confirmar a deliciosa ironia d'aquelle philosopho para quem cada um de nós, por mais pequenino que seja, se julga no intimo uma especie de centro de systema planetario...

———

Felizmente, no largo espirito de OSWALDO havia logar para tudo.

N'Elle se casavam á maravilha as cogitações scientificas e os anhelos de arte. Como LEONARDO DA VINCI, sabia associar « *l'audace du rêve à la precision de la science, la fantaisie la plus merveilleuse à la raison pure* ».

Comtudo, para sermos exacto, devemos dizer que não lhe era accentuado o senso musical, o que aliás se verifica mais ou menos na sua descendencia, porquanto os seus filhos, na maioria, não teem ouvido nem manifestam gosto para a musica, apezar dos apreciaveis dotes musicaes que poderiam herdar pelo lado materno. Entretanto, já é notavel o pendor que alguns d'elles apresentam para as artes plasticas, destacando-se n'uma de suas filhas, eximia retratista, cujo talento era um dos orgulhos do Pae e já mereceu elogios de mestres como HENRIQUE BERNARDELLI e J. BAPTISTA DA COSTA.

Parece-nos que taes factos teem uma relevancia incontestavel: 1º—porque está estabelecido pelos melhores observadores que os sentidos são, de regra, transmittidos pela herança, mórmente o o do ouvido, conforme o celebre exemplo de BACH, que contava 57 musicos eminentes em sua familia; 2º—porque, ao lado do mau ouvido da familia CRUZ, sobresahe o gosto pelas artes plasticas, que se relacionam com a vista, o mais nobre de todos os sentidos e tambem passivel de transmissão hereditaria.

Por conseguinte, si « *le semblable produit le semblable* », o Mestre possuia virtualmente um dom artistico que, por falta de technica e em virtude do rumo que tomou a sua vida, não poude concretizar-se em obras, mas logrou passar a alguns dos herdeiros, particularmente áquella filha em que se reflectem muitas das ricas prendas paternas.

Não temos, pois, duvida em affirmar que Elle era pintor, esculptor e architecto. Ninguem o sabia, mas era-o. Naturalmente, no mundo corriqueiro dos que vivem para as cousas concretas, tal homem nunca seria artista do pincel ou do escopro, simplesmente porque não sabia manejal-os. Mas, si admittirmos uma arte subjectiva que palpita na imaginação de certos espiritos previlegiados, essa OSWALDO a teve de modo inconcusso, talvez muito mais amplamente do que alguns dos chamados criticos da arte, os os quaes, exceptuados um DIDEROT, um JOHN RUSKIN e outros de grande visão esthetica, não costumam passar

dos contornos, da perspectiva, dos coloridos, em summa, da face puramente technica e material.

Para a observação de uma tela, uma estatua ou um monumento architectonico julgamos que o Mestre dispunha de um processo personalissimo: um mixto de analyse artistica e scientifica, culminada por uma synthese onde fulgurava o seu admiravel senso de proporção e harmonia e a mais admiravel ainda interpretação psychologica. Com aquelle equilibrio perfeito, que foi um dos segredos e uma das maravilhas da sua vida espiritual, punha o rigor da sciencia ao serviço da arte, mas por fim deixava-se arrebatar nos transportes do poeta, que só tem olhos para o bello.

———

Sentia-se que no seu viver intensamente agitado ainda lhe faltava qualquer cousa. Não que algum dia o dissesse, pois, não era attreito a confidencia; mas quem o observasse attentamente havia de lobrigar-lhe um vago anceio, que talvez nem Elle mesmo soubesse definir o que era inexplicavel na sua vida gloriosa, cheias de ideaes realizados.

É que não lhe sobrara tempo para expandir a sua alma de estheta, desenvolvendo-se no tirocinio de uma das artes plasticas.

Nos seus raros momentos de ocio, ou quando se via coagido a ouvir narrativas enfadonhas, como acontecia muitas vezes nas audiencias que na Directoria de Saúde Publica tinha de conceder a pessôas desinteressantes, curvava-se sobre um papel e com lapis de cores ia traçando figurinhas e outros desenhos, onde por entre a confusão dos rabiscos se percebiam traços e linhas delicadas.

Era o seu entretenimento predilecto.

Aos domingos, consagrados inteiramente ao lar, dedicava-se tambem á photographia, em que se tornou perito, como que a procurar uma sorte de succedaneo n'essa tristonha arte scientifica. Mais tarde (não sabemos ao certo qual o motivo) talvez após uma excursão pelos principaes paizes europeus, talvez depois que conheceu a Italia, deixou de gozar o mesmo encanto que outr'ora achava na sua « KODAK ».

Não consta que lhe sahisse dos labios tal confissão. Todavia, é provavel que, depois que seus olhos fitaram as grandiosas obras legadas á posteridade pela arte italiana, jamais lhe fugissem da retina as impressões que o prostraram em extase deante de tantas cousas divinaes.

———

Mas onde a sua esthetica attingiu ao auge foi na architectura.

Era natural que assim fôsse, pois essa é a maior de todas as artes, na opinião de J. RUSKIN, que exige para todo o architecto digno desse nome as qualidades de grande pintor e grande esculptor.

Aqui, porém, o senso artistico de OSWALDO não se quedou em platonismo. Aqui, mau grado a ausencia de technica com que teve sempre de haver, conseguiu idear e erigir um monumento que constitue uma das glorias archtectonicas do Rio de Janeiro.

Para isso, tomou de um moço obscuro, sondou-lhe a intelligencia, que era portentosa; e, graças á sua invejavel capacidade de orientador, rapidamente transmudou-o n'um profissional perfeito, armando-o cavalleiro para as pugnas da arte, fazendo-o tambem completo especialista em construcções de hospitaes e laboratorios.

Ahi está como se levantou da abandonada restinga de Manguinhos esse magestoso palacio que é, em synthese, um ideal scientifico engastado n'um devaneio esthetico.

Como tudo em OSWALDO tinha a sua razão de ser e obedecia sempre a

logica inflexivel, temos meditado muitas vezes sobre os motivos que o levaram a eleger, dentre tantas escolas imponentes, o tão desprezado estylo mourisco.

Debalde foram resolvidos os archivos do Mestre, bem como consultadas opiniões valiosas. Tudo em vão. Tambem a exigua bibliographia compulsada só nos apontava a superioridade da civilização greco-romana, ao lado da pobreza de inspiração e da falta de originalidade da arte arabe. No emtanto, esses mesmos auctores, quando se referem ao Alhambra, deixam fugir da penna sinceros adjectivos encomiasticos que bem delatam o enlevo produzido pelo extraordinario castello que os sarracenos deixaram em Granada como o expoente maximo da sua concepção artistica.

Talvez falasse ao coração do Mestre essa desdenhosa injustiça com que os dignatarios da esthetica dominante costumam tratar a arte musulmana, sempre tão subtil, tão caprichosa, tão viva e tão attrahente que apezar de todos os preconceitos arrebata os que a contemplam desprevenidamente, sem o grilhão dos dogmas doutrinarios.

Porque tudo n'ella é innegavelmente encantador. Porque ella faz lembrar uma roupagem finissima com que a delicadeza humana recobre a superficie nua dos edificios; porque semelha as rendilhadas vestes das mulheres, notadamente as mantilhas com que as sevilhanas resguardam suas formas graciosas; porque emfim, si EÇA DE QUEIROZ tivesse de talhar materialmente o seu entresonhado « veu diaphano da fantasia », talvez o fizesse de arabescos...

Talvez por isso, um dia, surprehendendo-o a olhar embevecido o seu palacio, alguem não se conteve, perguntando-lhe *ex-abrupto:*

— Qual o motivo que o levou a proferir o estylo mourisco?

— Porque é o mais bonito, respondeu n'aquelle tom simples, caracteristico das verdades sem refolhos.

E voltou a mirar enamorado a sua obra.

XVIII—Gonçalves Cruz.

Le culte des ancêtres est la racine de toute religion.

A alguem que o felicitava por ter o governo dado o nome de OSWALDO CRUZ ao antigo Instituto de Manguinhos, respondeu o Mestre, entre serio e risonho, que nada tinha a ver com essa homenagem.

— Como assim?

— Porque esse não é o meu nome.

Realmente, quem rebuscar os archivos á procura de papeis por Elle assignados, difficilmente encontrará firmados por seu punho esses dous nomes. Officialmente assignava-se—GONÇALVES CRUZ, ou então, abreviadamente, como rubrica—GLZ CRUZ. Nas cartas intimas, o simples prenome: OSWALDO. Em escripturas, actos solemnes: Dr. OSWALDO GONÇALVES CRUZ.

No emtanto, o Brasil inteiro o conhecia por OSWALDO CRUZ.

———

Ha bastante tempo, em Bello Horizonte, o Presidente recebera um telegramma assignado—GONÇALVES CRUZ. Debalde os officiaes de gabinete e outros funccionarios foram consultados a respeito dessa firma desconhecida. Ninguem decifrava a incognita. Só no dia seguinte, depois de muitas voltas, foi o despacho parar ás mãos de um assistente de Manguinhos, que lhe deu o desejado esclarecimento.

Facto analogo consta que se passou no Estado do Pará e provavelmente em outros lugares.

De uma feita, Elle quiz apresentar um discipulo ao Dr. BARBOSA ROMEU, em cujo serviço hospitalar havia um interessante caso de leucemia. Escreveu ao eminente medico uma carta muito attenciosa, cheia d'aquelle affectuoso res-

peito que Elle como ninguem sabia tributar ás pessoas idosas e aos homens de valor. O destinatario leu-a, releu-a, examinou diversas vezes a assignatura, perguntando por fim ao portador:

— Quem escreveu esta carta?

Assim, todos extranhavam que o possuidor de um nome tão glorioso preferisse para sua firma individual aquella especie de pseudonymo. Alguns intimos chegaram mesmo a lhe insinuar a conveniencia de deixar esse habito antigo, que já não tinha razão de ser, uma vez que a sociedade inteira o acclamava sob o nome que o proprio governo escolhera para dar ao seu querido Instituto.

O Mestre poderia, como o philosopho, responder que o nome é a exterioridade. Preferia, porém, encolher os hombros e continuar o seu caminho.

Mas, porque esta obstinação?

Por um motivo muito simples: desde que lhe morrera o Pae, adoptara a assignatura deste, a qual, em nenhuma hypothese, seria capaz de abandonar. E assim foi até aos derradeiros dias de existencia.

———

Ainda outra modalidade do culto á memoria paterna.

Morto o Dr BENTO GONÇALVES CRUZ, o filho veiu a substituil-o nas funcções de medico da fabrica de tecidos « Corcovado ». Nem com os encargos de Director da Saúde Publica, nem no auge das campanhas sanitarias e scientificas, deixava de cumprir os deveres de facultativo dessa companhia, onde fundára uma *crèche,* talvez a primeira do Brasil, e onde Elle em pessoa, muitas vezes, fiscalisava o banho e a alimentação das creanças.

Os escribas e fanaticos, que tão levianamente o anathematizavam com os epitetos de despota, tyranno, etc., deviam ter ido ver esses actos de philantropia, representados occultamente, 3 vezes por semana, pela manhã, no consultorio do dito estabelecimento fabril, onde humildes operarios adoravam o seu bemfeitor, e as creancinhas pobres encontravam o melhor dos seus amigos, o qual, por entre caricias e esmolas discretas, tambem as vaccinava com as suas proprias mãos, certo de que era este o maior beneficio que lhes podia prestar.

Mas, um dia, por solidariedade com alguem que lhe merecia fraternal amizade, deixou para sempre o seu amado cargo, a sua querida clientela, que tambem fôra antigamente de seu estremecido Pae.

Foi esse, com certeza, um dos grandes desgostos de sua vida.

———

Sua presença no cemiterio era constante: no minimo, duas vezes por semana, lá ia contemplar o tumulo venerado, ornamental-o com as mais lindas flores do seu jardim.

Ao partir para uma viagem, a sua ultima visita, após o abraço á sua velha Mãe, era á necropole de S. João Baptista. Ao regressar, não se sentia bem emquanto não revia o mesmo campo santo.

As vezes, quando qualquer questão séria o absorvia, era ao lado da sepultura paterna que preferia meditar e resolver os graves problemas de sua vida publica.

Que linda pagina de mysticismo não escreveria MATERLINCH si conhecesse o nosso sabio espiritualista!

XIX—Um traço.

Durante uma viagem de OSWALDO, alguns dos seus amigos abriram uma subscripção para offerecer-lhe uma lembrança duradoura. Não faltaram donativos, que em poucos dias encheram as listas, aliás discretamente distribuidas.

Regressando, porém, mal soube do occorrido, tratou de tomar providencias

radicaes afim de que não fôsse avante a referida idéa, que era, si não nos falha a memoria, a compra de uma casa para sua residencia.

Encerrando a mencionada subscripção, que importaria em sacrifico para muitos funccionarios pobres, apurou o producto obtido e com mil cautelas e delicadezas fel-o chegar ás mãos da digna viuva de um companheiro valoroso que tombara em meio da jornada, deixando a familia em precarias condições.

XX—O Academico.

Diversas vezes agitaram a sua candidatura á Academia Brasileira de Letras. Sempre, porém, que lhe tocavam no assumpto, repellia-o delicadamente, mas com firmeza, allegando que nunca buscára posições eminentes na sua classe, (*) portanto, muito menos as disputaria fóra d'ella.

Sem embargo d'essa tenaz e longa resistencia, um grupo forte de « immortaes » não cessava de incital-o a pleitear uma cadeira no appetecido cenaculo.

Sua opposição, todavia, era inflexivel. Debalde lhe expunham uma serie de argumentos, cada qual mais convincente e seductor. Vinha sempre á balha o paradigma da Academia Franceza, que o cardeal de Richelieu desejára, não um centro exclusivo de letrados, mas um « salão de notabilidades », onde fulgissem alguns dos grandes vultos da França—homens de sciencia, doutores da igreja, cabos de guerra, etc.—ao lado de poetas e prosadores.

A tudo o Mestre resistia.

Mas houve quem, afinal, se mostrasse molestado com tantas negativas, chegando a insinuar que o sabio collocava a sua gloria muito acima da investidura academica.

Tanto bastou para que, embora constrangido, consentisse na apresentação do seu nome, conforme podem attestar diversos academicos vivos.

Quando todos os outros meios falharam, vencera um simples ataque ao seu reducto de sensibilidade e delicadeza.

———

Effectivamente, OSWALDO não tinha preoccupações literarias. Nem mesmo consta que houvesse commettido os quasi infalliveis versos da juventude brasileira, não obstante ter sido sempre um espirito genialmente poetico.

Porque si ha uma poesia que não se traduz em palavras metrificadas; si ha trovadores que guardam apenas para si as canções que lhes tange o alaúde d'alma; si ha bardos que, vivendo em contacto com a natureza, sabem amal-a com véra paixão, em tudo que ella tem de bello, nobre e amavel, então OSWALDO foi poeta no mais alto sentido do vocabulo.

Mas era-lhe tão viva a sensibilidade, tão profundas as paixões, tão requintada a sua esthetica, tantos e tão variados os seus modos de viver, pensar e agir, que lhe seria impossivel vasar na disciplina dos metros o tumulto de sensações que o empolgavam. O livro devia ser ridiculamente pequeno para conter esse immenso mundo invisivel. E como se fazia mistér expandil-o, tornou-se um realizador de sonhos.

Foi, portanto, como poeta que luctou contra os inimigos da vida e do bello; que erigiu a sua escola, cercando-se de discipulos, como Christo, para augmentar e diffundir a centelha do seu genio.

Tambem foi nessa caracter que a Academia o consagrou, definindo-o pela voz do Sr. AFRANIO PEIXOTO.

« Vós sois como os grandes poetas que não fazem versos: nem sempre estes

(*)—Como exemplo, podemos citar o facto de ter recusado a presidencia da Academia Nacional de Medicina, o que foi recentemente divulgado pelo eloquente discurso do Dr. E. SALLES GUERRA, no dia 5 de Agosto de 1922, no cemiterio de São João Baptista.

têm poesia e ella sobeja na vossa vida e na vossa obra ».

XXI—Um discipulo.

Na impossibilidade de retratar espiritualmente cada um dos discipulos que mereceram a estima do Mestre, seja-nos ao menos licito apresentar em breves linhas um perfil d'aquelle que foi sempre o mais amado de todos elles e é hoje o seu digno successor no Instituto por Elle creado e no campo de lucta onde se travaram as memoraveis campanhas sanitarias que tanto engrandeceram o nome do Brasil.

Si outros motivos de consciencia não nos impuzessem o dever de personificar em CARLOS CHAGAS a herança moral e scientifica do Chefe da nossa escola, bastar-nos-ia relembrar a belleza do seu gesto cavalheiresco, fazendo reverter em proveito da estatua de OSWALDO CRUZ o premio pecuniario (50 contos de réis) que por seus estudos originalissimos soubera merecer do alto espirito de justiça do governo brasileiro.

Que os nossos condiscipulos nos perdôem a expansão de intimo reconhecimento a esse singular altruista, já que lhe coube a opportunidade—a nenhum de nós outros concedida—de n'uma quadra de immoderadas ambições materiaes privar-se de um quinhão de ouro para transformal-o no bronze do veneravel monumento.

***

CARLOS RIBEIRO JUSTINIANO DAS CHAGAS foi sempre um espirito de notavel originalidade.

Formado, em 1903, pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, ahi deixou uma tradição de talento, coroada pela sua these inaugural — « Estudos hematologicos no impaludismo » — uma das mais brilhantes publicações elaboradas nos primeiros tempos de Manguinhos. Releva notar que n'essa monographia, talvez hoje classica si fôsse escripta em lingua mais vulgarisadora do que a nossa, n'esse interessante ensaio já o auctor deixou esboçada a sua feição caracteristica: a perfeita harmonia entre o clinico e o homem de laboratorio.

Logo após, seduzido pelos problemas de hygiene rural, dirigiu com pleno exito a primeira e celebre campanha antipaludica levada a effeito no nosso paiz. Data d'esse epoca (1906) o opusculo— « Prophylaxia do impaludismo »—no qual se condensam idéas e factos bastante curiosos á cerca d'esse assumpto de magna importancia para tantas e tão ricas regiões do globo. N'esse artigo aventou o conceito que attribue papel preponderante aos mosquitos albergados nos domicilios, onde podem ser facilmente eliminados por processos conhecidos, tornando assim mais simples a referida prophylaxia.

Simultaneamente, teve occasião de estudar os culicideos brasileiros mórmente as anophelinas transmissoras de hematozoarios, dando a lume, em 1907, os seguintes trabalhos:

— « O novo genero *Myzorrhynchella* de Theobald—Duas novas anophelinas brasileiras pertencentes a este genero: *M. parva* e *M. nigritarsis;*

— « Novas especies de culicideos brasileiros »;

— « Uma nova especie do genero *Taeniorrhynchas* ».

Além disso, cumpre-nos assignalar que o Dr. CHAGAS é uma das maiores auctoridades mundiaes em Pathologia exotica, mercê de conscienciosos estudos de demoradas viagens pelos sertões e mattas brasileiras (Minas Geraes, S. Paulo, Amazonas, Pará). A prova de tal nomeada foi a serie de conferencias por elle realizadas em universidades norte-americanas, a convite da *Rockefeller Foundation.*

———

Mas a sua personalidade dispensa

encomios. Nem siquer seria possivel analysar em poucas linhas a totalidade de suas producções. Entretanto, vale a pena rememorarmos, ainda que pallida e summariamente, as condições em que elaborou a sua obra prima.

Estava o joven medico empenhado em uma das suas luctas anti-malaricas quando, no complicado meio nosologico que é o sertão norte-mineiro, teve conhecimento de um insecto extraordinariamente hematophago — «*Triatoma megistus*» — (*) vulgarmente chamado «barbeiro» ou «chupão», que se acoita nas toscas habitações campestres, occultando-se em pequenas frestas e outros esconderijos, de onde sahem á noite cautamente para sugar o sangue do homem, sua victima predilecta.

CHAGAS, n'um relance, teve a antevisão exacta de tudo que o facto podia comportar; e para logo estudou o mencionado hemiptero, desvendou-lhe os habitos mysteriosos, encontrando-lhe, por fim, no interior do apparelho digestivo um protozoario interessantissimo, sob a fórma de *crithidia*.

Ora, quem como elle se affizera á observação das doenças tropicaes, chegando á intuição de considerar o mosquito caseiro como o transmissor principal dos plasmodios de Laveran, não devia hesitar deante do precioso achado. D'ahi a certeza com que concebeu e executou todo o programma do seu trabalho, que na opinião de OSWALDO CRUZ», constitue o mais bello exemplo do poder da logica a serviço da sciencia.

Já agora, dir-se-ia, nada mais facil que rematar o raciocinio clarividente, buscando na economia humana o fecho do cyclo pathologico que o sabio com tanto brilho prefigurára.

Mero engano. O scientista teve de medir-se com um adversario subtil, uma especie de phantasma infinitamente pequeno que investe subrepticiamente contra a sua victima, abandonando présto a torrente circulatoria para ir engastar-se na intimidade recondita dos tecidos. Travou-se então uma peleja porfiada entre o microbiologista e o microbio, da qual sahiu vencedora a fé scientifica, a razão antevidente do biologo. E o estudo completo do «*Trypanosoma cruzi*» (nome dado em honra ao Mestre) é um attestado do valor de CHAGAS como protistologista, que teve a ventura de receber um *veredictum* irrevogavel, laurel maximo a que poderia aspirar: o «Premio SCHAUDIN», outorgado por juizes que se chamam ROUX, LAVERAN, PROWAZECK, KITASATO, OSWALDO CRUZ e outros profissionaes de renome universal.

No pastoriano, porém, vibrava ao mesmo tempo uma admiravel arganização de clinico, que logrou apprehender toda a vastidão da sua descoberta.

Sem duvida, a tarefa se affigurava demasiadamente grande para qualquer outro obreiro; mas a envergadura deste era tal que de suas proprias forças havia de surgir á luz esse bloco inteiriço, sem jaça: a nova entidade morbida, actualmente consagrada por orgãos de auctoridade irrecusavel como, entre outros, C. MENSE, que confiou ao nosso patricio a redacção do respectivo capitulo no seu celebre tratado.

Nem se diga que a physionomia clinica d'essa doença é relativamente simples como a da «molestia do somno», sua congenere. Ao contrario, no mal de CHAGAS a variedade de aspectos morbidos, devida ás differentes localizações do germe, dá-lhe um cunho de polymorphismo talvez só comparavel ao da syphilis.

De facto, vencida a phase aguda, sempre fugaz e quasi sempre despresentida, o trypanosoma deixa a corren-

(*)—Outras especies do mesmo genero teem identicas propriedades.

te sanguinea e vae embutir-se nos tecidos, onde soffre modificações profundas para adaptar-se á vida de histoparasita, sua verdadeira funcção no hospedeiro vertebrado. Ahi começa por perder o flagello, immobilisando-se á maneira das *leishmanias;* depois enkysta-se; multiplica-se; e jamais abandona a sua presa, quer seja esta o myocardio, o encephalo, as glandulas de secreção interna, etc. D'onde as modalidades clinicas, porque se manifesta esse *morbus* multifario: a forma cardiaca, a nervosa, a pseudo-myxedematosa, as syndromes, etc. Quasi um tratado de pathologia!

Não obstante, CHAGAS conseguiu lavral-o com mãos de mestre, conferindo-lhe a singeleza das verdades eternas. E ao passo que, para o conhecimento talvez ainda incompleto da trypanosomiase africana, se fez mister uma phalange de profissionaes da estatura de CASTELLANI, R. KOCH e outros tantos sabios e commissões de varias nacionalidades—francezes, inglezes, allemães, italianos, portuguezes—ao passo que até hoje a sciencia cosmopolita ainda se congrega para esclarecer parcelladamente, especializadamente, a molestia do somno, emquanto isso, CHAGAS, isolado n'um recanto inhospito, sem o minimo conforto, a perto de 200 leguas do litoral sul-americano, ergue de uma só arrancada esse complexo e perenne monumento de saber.

———

Não é só isso.

Não se restringe ao campo da medicina o alcance da sua obra sem par. Ha em toda ella um aspecto social que requer uma pequena menção.

É que essa doença maldita, desde tempos immemoriaes, acampou em consideraveis zonas do Novo mundo, assolando diversos estados do nosso paiz, das republicas do Equador, do Perú, da America Central e provavelmente da Argentina e do Uruguay, ameaçando o futuro d'essas nações jovens e opulentas, que precisamente agora offerecem o maximo de possibilidades e attractivos aos povos europeus empobrecidos pela guerra.

Será possivel que se não veja no esforço do scientista brasileiro um interesse rigorosamente internacional, além de humanitario?

Não é só isso.

Deante de phenomenos tão requintadamente scientificos, CHAGAS poderia extasiar-se á imitação d'aquelle philosopho que considerava as molestia como « *les formes nescessaires de la vie* », as quaes escondem « *sous un desordre apparent, des harmonies profondes* ».

Mas CHAGAS tem sentimentos. Nunca poude habituar-se contemplação d'esses miopragicos, papudos, aparvalhados, miseraveis, vencidos, que arrastam uma existencia digna de dó, á espera sómente da morte unica salvação possivel para esse estado de marasmo collectivo em que languesce a immensa legião de parias, que vegetam á margem da civilização, abandonados por aquelles que se dizem seus semelhantes, seus irmãos.

Pois foi CHAGAS quem revelou no seculo XX esse quadro horripilante; foi elle quem estabeleceu as bases para a preservação dos ainda não acommettidos, entremostrando tambem aos pobres invalidos um raio bemfazejo de esperança. Fel-o, porém, com a sua alma compassiva, vivendo longo tempo a mesma vida d'esses desherdados da sorte, identificando-se com elles pelo coração, diminuindo-lhes os soffrimentos, amparando-os material e moralmente, fazendo de missionario antigo.

Por conseguinte, si é possivel entrelaçar n'uma só pagina um alto feito scientifico e uma obra resplandecente de piedade humana, ninguem entre os vivos o fez como CARLOS CHAGAS, que bem

merece a sympathia, a admiração, os applausos de todos os homens justos.

XXII—Isso é tão raro.

Quando em 1902 o incipiente Instituto soffreu a primeira crise moral e administrativa, em virtude da qual o Mestre abandonou altivamente o seu cargo, houve um pobre servente, lavador de vidros, que correu ao altar da Virgem e lá depoz um cirio acceso, até que se operasse o milagre de tornar a Manguinhos o querido chefe demissionario.

— Eu tenho fé, dizia elle com os olhos marejados de lagrimas, eu tenho fé que o nosso patrão ha de voltar. Elle é tão bom...

— E o velho MUNIZ não teve socego emquanto não viu de novo em seu posto.

Voltou, felizmente: mas voltou ainda mais dignificado e forte.

Depois, ao saber d'aquella promessa fervorosa, OSWALDO, em cuja alma o sentimento de gratidão pairava tão alto, ficou de tal modo commovido que nunca mais esqueceu o humilde servidor, de quem se fez amigo dedicado.

Por isso, o velho MUNIZ, octogenario e curvo, era ainda a pouco umas das tradições vivas da casa, sempre firme nas suas obscuras funcções, cercado sempre da amizade respeitosa de todos. E como elle era pauperrimo e tinha uma familia honrada e numerosa, a administração de Manguinhos vem ha muito acolhendo os filhos, os netos e provavelmente fará o mesmo aos bisnetos do digno servente.

*
**

Assim que o novo predio ficou em condições de funccionar, embora parcialmente, o Director fez a distribuição dos laboratorios, salas e dependencias por todo o pessoal technico, administrativo e subalterno, cabendo ao antigo lavador de vidros um lugar ao lado do seu filho mais velho, homem já maduro, habil preparador de meios de cultura. Este, porém, contra a expectativa geral, resmungou contra tal designação, allegando que não lhe convinha a companhia do Pae.

O caso foi levado ao conhecimento do Mestre que, extranhando o procedimento de quem sempre fôra bom filho, não poude deixar de interpellal-o. O ANTONIO, porém, muito vexado e constrangido, explicou-se:

— Porque não posso fumar á vista de meu Pae.

A physionomia até então fechada do Chefe desfez-se n'um sorriso de felicidade. Acto continuo, deu todas as providencias para que fôsse attendido o desejo do filho respeitoso.

E muito tempo depois, narrando o facto a um dos seus discipulos, emquanto o seu automovel perlongava as calçadas da Avenida, repletas de irreverentes casquilhos de todas as idades, Elle concluia pensativo, talvez com uma sombra de tristeza:

— Isso hoje é tão raro...

XXIII—Patriotismo.

— « Cada vez que venho da Europa, mais me convenço das qualidades extraordinarias dos brasileiros ».

E justificava o conceito, affirmando que a medida intellectual dos nossos patricios é maior que a de qualquer outro povo. Que ninguem com mais facilidade de assimilação do que nós. O que nos tem faltado de um modo lamentavel é o ensino, mas o ensino farto e bom, para acabar de vez com essa outra escravidão que nos opprime. Em summa, apologista da instrucção primaria obrigatoria, anhelava pelo advento da futura lei aurea que hade um dia libertar das masmorras da ignorancia os ultimos captivos do Brasil.

No tocante ao ensino superior, exemplificava:

— Conhecem medicos, engenheiros, advogados, emfim, profissionaes mais habeis do que os nossos? Que nos falta para attingirmos ao mesmo grau de adiantamento de certos paizes? Sómente meios de estudo, laboratorios, installações adequadas, orientação pratica, regularidade e rigor nos cursos e nos exames.

Entretanto, o seu orgulho patriotico não ia ao ponto de negar valor ás outras gentes. Ao contrario, recorria, sempre que era preciso, aos mestres extrangeiros, que trouxeram ao Instituto as luzes de seu saber. Ahi estão os exemplos de PROWAZECK, HARTMAN, GIENSA (e posteriormente, já sob a direcção do Dr. C. CHAGAS, o Dr. B. CROWELL). Aqui, graças á orientação, ao criterio, ao lato descortino e, sobretudo, ao patriotismo do Mestre, esses professores fizeram escolas, elaboraram trabalhos de alta monta em collaboração com seus jovens alumnos, alguns dos quaes tão grandes como elles.

Mas, ai dos sabichões de sciencia infusa, sob a custodia de sete chaves; ai dos presumidos super—homens idolatras da mythica superioridade das raças; ai dos que ousassem duvidar da capacidade do Brasileiro! Para esses tinha, como soube ter em certa occasião, a serena energia, o opportuno castigo moral, a repressão fina e justa que valia por uma vergastada nas faces.

OSWALDO conhecia todos os Estados do Brasil, menos o de Goyaz. De volta das suas excursões trazia sempre muitas lembranças photographicas que constituem uma collecção copiosa e interessante, a qual, em casa, aos domingos, Elle revia no seu verascopio.

No antigo salão da directoria do Instituto—actualmente « Museu de recordações de OSWALDO CRUZ »—encontra-se por toda parte uma serie de cousas que dizem respeito ao nosso paiz: mappas muraes, livros de viagens, monographias diversas, em synthese, o esboço de uma excellente bibliotheca brasiliana, que era seu intento completar.

Na sua residencia, a mesme cousa e mais uma porção de objectos brasileiros, inclusive arcos e flexas de indios e até esqueletos de animaes curiosos da nossa fauna maritima. Na meza de estudos estava, até ha pouco tempo, um grosso caderno em que ia annotando a contribuição para o futuro diccionario de brasileirismos, organizado pela Academia de Letras.

Admirava os nobres vultos do passado, conhecendo bem os principaes episodios da nossa Historia, nomeadamente os da guerra do Paraguay, alguns dos quaes, ouvidos de seu Pae.

Assim, em OSWALDO, o patriotismo se revestia do aspecto de outra religião.

Por mais grave que fôsse a crise economica, financeira e politica; pessimos que fossem os governantes do momento, jamais deixou de crer firmemente nos destinos da Patria.

Sempre calado e observador, muitas vezes as discussões se travavam animadas, cerca de si, a proposito de mil questões. De regra, limitava-se a ouvir; não raro, sorria; mas si alguem erguesse a voz contra o paiz, apostrophando-o com um d'esses anathemas tão proprios dos mocinhos pessimistas, ingenuamente *blasés*, então Elle emergia do habitual silencio para defender a sua terra. E ante os olhos dos scepticos desdobrava o formoso painel em que a sua alma sonhadora antevia o grande Brasil de amanhã.

XXIV—Na intimidade espiritual.

OSWALDO teve a seu favor dous elementos que encerram a força de duas grandes leis biologicas: a hereditariedade e a influencia do meio.

Em virtude da primeira, Elle houve dos seus genitores um embryão espiritual tão puro e elevado quanto é possi-

vel n'esta humanidade imperfeitissima. Graças, á segunda, coube-lhe a ventura de encontrar um educador predestinado.

Qual dos dous factores lhe teria sido mais propicio á formação do espirito?

Para os adptos das doutrinas de TH. RIBOT, estaria tudo explicado como um caso classico de *herança directa e immediata, com predominancia paterna.* Além d'isso, sabendo-se que os Paes do Mestre eram primos-germanos, com pronunciada homogeneidade de sentimentos e intelligencia, nada mais seria preciso para que se interpretasse o presente caso como um d'aquelles raros em que a consanguinidade constitue um factor de aperfeiçoamento mental, realisando, portanto, um dos anhelos dos idealistas e confirmando mais uma vez a crystallina verdade que DARWIN resumia na concisão de uma sentença: « a hereditariedade é a lei ».

No caso em questão, bastaria um rapido confronto para verificarmos tambem a semelhança physica entre Pae e Filho aos quarenta annos: a mesma estatura, o mesmo *embonpoint,* a mesma pallidez, a mesma abundancia e implantação dos cabellos precocemente encanecidos, os mesmos traços physionimicos, largos, sympathicos e expressivos, e até a mesma arterio-esclerose que os victimou—o primeiro aos 47, o segundo aos 44 annos de idade—comprovando assim a lei da herança homóchrona de HAECKEL. No tocante ao caracter, não era menor a analogia, pois, de facto, o Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ foi um espirito de eleição que passou despercebido no seu tempo e no seu meio, por muitos e differentes motivos, entre os quaes a formidavel lucta pela vida que desde cêdo tivera de sustentar.

Mas si quizessemos considerar o nosso caso como de « herança cruzada », tal como, entre outros, o de METCHNIKOFF, que attribuia seus dotes espirituaes ao lado materno, não heveria n'isso difficuldades, visto que D. AMALIA DE BULHÕES CRUZ era uma senhora de valor intellectual e moral, para quem nunca houve o peso da velhice, porque sabia deparar nos bons livros, principalmente nos francezes, o melhor lenitivo para os seus males corporaes e para as suas infindas saudades.

Entretanto, si fossemos confiar unicamente á fatalidade da herança a sorte da humanidade, chegariamos ao extremo quasi criminoso de TH. RIBOT, a quem não repugnara esboçar um vago desdem pela educação, cuja orbita de efficiencia, para elle, não iria além dos limites da mediocridade.

Em que pese á admiração que votamos ao brilhante psychologo, parece-nos que devia merecer energico protesto dos pedagogos esse libello tão injusto quão irreverente contra uma das mais caras esperanças dos philantropos, contra o mais perfeito dos instrumentos de civilização, ao qual, por bem dizer, está entregue o futuro da especie humana, conforme affirmaram pensadores da altura de KANT, LEIBNITZ, SPENCER e outros.

Por consequencia, sem negar á hereditariedade o relevante papel represntado na formação psychica de OSWALDO CRUZ, antes enaltecendo-o, pensamos, posto que debaixo das reservas e restricções devidas á nossa lamentavel incompetencia, pensamos que, além da referida lei, mais alguma cousa houve que concorreu para aprimorar desde o nascedouro esse já tão bello espirito. Verdade é que o elemento a que queremos nos referir é ainda o proprio casal que lhe deu o ser. Acreditamos, todavia, que, outros fossem os educadores, comtanto que a educação fôsse a mesma, o resultado não seria diverso, porque a ninguem é licito recusar a essa arma poderosissima a força victoriosa que ella contém.

A prova d'isso está nos innumeros

exemplos que cada um conhece e dos quaes a sociedade está cheia: bons corrompidos pelos maus; maus ennobrecidos pelos bons.

A prova d'isso está na influencia que os grandes espiritos exercem sobre a sua *róda*, a ponto de refazer a entrosagem intellectual dos tacanhos, que no fim de algum tempo, á custa de uma gymnastica cerebral lenta e gradativa, conseguem ás vezes acompanhar o vôo altaneiro dos seus guias, copiando e adquirindo muitas e valiosas faculdades.

A prova d'isso está n'uma especie de contagio espiritual, n'essa influencia nefasta que alguns cerebros rudes teem sobre moços intelligentes, mas dotados de pouca energia, os quaes se deixam atrophiar mentalmente, tornando-se ás vezes tão apoucados quanto os seus mentores, justificando assim um faceto proloquio: *burrice péga.*

A prova d'isso, finalmente, está na propria pessoa do Mestre, cuja irradiação intellectual e moral era um facto incontestavel e é o mais bello exemplo da these que modesta e sinceramente procuramos defender.

***

OSWALDO foi o que commumente se chama um menino de bôa indole; mas isso talvez não bastasse para tornal-o um homem tão prodigamente dotado para as victorias da vida. O facto é que, sem embargo da sua natural meiguice, não deixou de manifestar algumas das más tendencias proprias das creanças.

Elle mesmo contava, na intimidade, que, viajando uma vez n'um bonde, aproveitou a distracção de uma pobre mulher para picar-lhe á tesourinha um bom pedaço do vestido novo. Horas depois, apresentava-se a victima em casa do Dr. BENTO CRUZ, narrando-lhe tudo, entre chorosa e indignada. Este ouvi-a com toda attenção, promettendo-lhe uma providencia satisfactoria. Regressando á casa, ia á velhota imaginando a tremenda sóva que o fedelho devia apanhar, quando foi surprehendida pela chegada do mesmo ao casebre onde ella morava, pedindo o favor de lhe confiar o facto para que sua Mãe o concertasse. Feitos os reparos com toda a pericia, tornou o menino a choupana para restituir a roupa á proprietaria e ao mesmo tempo apresentar-lhe desculpas, accrescentando que não lhe trazia outro vestuario novo porque seu Pae, no momento, não podia arcar com tal despeza.

Este e outros episodios, alguns dos quaes já relatados, revelam o nivel de perfeição do methodo educativo que o bondoso clinico instituiu em seu lar.

Já vimos que esse methodo consistiu em conquistar a amizade confiante do filho insinuando-lhe persuasivamnete todas as noções tendentes ao aperfeiçoamento do caracter e da intelligencia, sem abusar da auctoridade paterna que, quando muito, se limitava a um pequeno codigo penal, cujo gráu maximo não ia além da suppressão dos carinhos, segundo os preceitos spencerianos, que o magistral educador pratico adoptava intuitivamente. Depois, com admiravel prenoção dos principios psychologicos que regem a moderna pedagogia, incutir-lhe diversos habitos uteis, como o da hora certa dos trabalhos, das recreações, etc., o estudo methodico, em summa, estabelecendo uma incomparavel disciplina moral e intellectual, culminada pela erradicação dos vicios e maus instinctos.

Dir-se-ia que ainda ahi elle levava á pratica os excellentes conselhos de WILLIAM JAMES, quando este diz que « em educação o grande problema é fazer do systema nervoso um alliado, e não um inimigo, é capitalizar as acquisições e viver folgadamente com os juros. Para isto devemos tornar automaticos e habituaes, tanto quanto pudermos o maior numero possivel de acções uteis e fugir com grande cuidado a tudo que puder engendrar habitos nocivos ».

Foi por estas e outras razões que OSWALDO veiu a ser um individuo sem par no seu meio e na sua epoca.

D'entre as qualidades que se lhe accentuaram sob esse regime espiritual, devemos destacar o *methodo*. Sem essa virtude—que deve ser uma modalidade da paciencia e portanto comparavel ao genio, si merece fé o conceito de Buffon—sem isso, não lograria Elle multiplicar quasi indefinidamente os esforços precisos para attingir aos seus ideaes.

Nas mais pequeninas cousas o Mestre denotava esse predicado.

Depois do jantar, emquanto em volta á meza as pessôas da familia conversavam, palrando as crianças com a natural tagarelice, OSWALDO ia catalogando e archivando documentos, cartas, telegramas, etc., que lhe pejavam diariamente a pasta, de modo que em qualquer emergencia tinha sempre á mão um papel valioso, sem o auxilio de ninguem, pois nunca teve secretario particular senão nos ultimos tempos, em que sua primogenita, por expontanea vontade, se impoz a si mesma o dever de lhe prestar alguns serviços.

Na organisação do Instituto, o mesmo methodo tambem figurou avultadamente. Desde as installações materiaes ate á divisão do trabalho intellectual, tudo demonstra que ahi está um modelo de methodo e tambem de previdencia, virtude esta que goza dos fóros de superioridade mental.

Para citar um exemplo, temos esse das sessões semanaes dos resumos.

Convencido de que é difficillimo (para não dizer quasi impossivel) a um só homem ler e guardar tudo quanto se escreve nas varias centenas de jornaes scientificos do mundo civilisado, Elle estabeleceu a seguinte regra: o Director distribue de accordo com o pendor de cada um os artigos mais interessantes das revistas que Manguinhos recebe; esses trabalhos são resumidos pelos respectivos encarregados, que para isso se reunem todas as quartas feiras, sob a presidencia do dito chefe. Conseguiu assim realizar um ideal de communismo scientifico, pois é esse o caso de «um por todos e todos por um». Mas não é só isso. Terminadas as sessões, começa o serviço de classificação das fichas, pelo mesmo leitor, sendo adoptado o processo decimal do Instituto Bibliografico de Bruxellas—o mais intelligente e completo, no genero. Depois o bibliothecario toma cada ficha de per si e a reproduz tantas vezes quantas forem indicadas pelo respectivo classificador, isto é, conforme o desdobramento de assumptos que a mesma comporta.

N'essas condições, o nosso Instituto tem uma enorme e preciosa collecção classificada de artigos que versam a biologia com todas as suas especialidades, as sciencias physico-chimicas, etc., já não falando na catalogação das suas obras, a qual obedece ao mesmo criterio.

———

OSWALDO não lia sem um lapis na mão. Annotava tudo que lhe parecia importante. E em certos livros classicos, que demandavam maior esforço de attenção, raciocinio e memoria, ahi é que o seu methodo era infallivel.

De uma feita, um dos seus discipulos, então em plena juventude, leu uma dessas obras exhaustivas (suppomos que sobre immunidade). Passados poucos mezes, o joven entrou a conversar com o Mestre sobre o assumpto, e qual não foi o seu espanto quando verificou que no seu espirito mais novo, após uma leitura muito mais recente, ficara um sedimento mais pobre do que o que rebrilhava na mente de OSWALDO. Desapontado e ao mesmo tempo curioso, o moço, manifestou desejo de saber o segredo d'aquelle paradoxo, uma vez que não fôra por falta de comprehensão que deixara de reter os referidos conhe-

cimentos. O Mestre com aquella attitude encantadoramente simpies e bôa que os seus amigos jámais olvidarão, caminhou para a estante, tirou precisamente o volume desejado e, saccando de dentro da capa um caderninho, mostrou ao inexperiente o resumo de toda a obra, por Elle feito havia bastante tempo.

N'esse episodio apparentemente insignificante se nota que OSWALDO—sempre com a mesma intuição clarividente que é privilegio dos espiritos superiores—punha em pratica, a um só tempo, os dous reputados methodos preconisados para o aperfeiçoamento da memoria: o *racional*, que « organisa, systematisa, classifica e analysa tudo, de accordo com a logica », e o *mechanico*, que consiste em « intensificar, prolongar e repetir a impressão a reter ». Não consta, entretanto, que se utilisasse dos methodos *artificiaes* ou *memotechnicos*, mesmo porque a sua retentiva era assombrosa para factos, doutrinas e experiencias, embora restricta para os numeros.

Em meio ás suas emprezas herculeas, implacavelmente alvejado por uma opposição solerte e multifaria, sabia o nome de todos os medicos (eram mais de 100) dos numerosos estudantes—auxiliares e de muitos funccionarios subalternos que trabalhavam sob as suas ordens. Não só conhecia a natureza e o valor do serviço de todos, como tambem formava um juizo exacto a respeito de cada um. Para tudo isso, muito raramente tomava uma nota, bastando-lhe conferenciar uma vez por semana com os sub-chefes e fazer, de quando em quando, uma das suas inopinadas inspecções.

Na direcção do seu Instituto, não menos apreciavel era a applicação d'esse precioso dom. Mesmo em assumptos que não o seduziram ou preoccupavam, quem quem quer que o consultasse obteria uma indicação util; e o que tornava ainda mais proveitosa a consulta era a synthese com que geralmente rematava a sua palestra cordial.

Seria ocioso ennumerarmos a serie de exemplos em que revelava essa estupenda faculdade tão malsinada pelos que não sabem ou não podem allial-a ao raciocinio. Felizmente, ja se lhe vae fazendo justiça, havendo até quem a reconheça como attributo primacial dos homens celebres. Ainda agora nos vêm á mente as palavras de um insigne pensador, as quaes parecem ter sido meditadas para explicar, pelo menos em parte, a vida triumphal de que nos vamos occupando: «*sans une memoire physiologique extraordinaire, on peut encore pretendre à devenir un specialiste; mais il faut renoncer au rôle et à l'influence des grands encyclopedistes et des tant puissants manieurs d'hommes* ».

———

Como si não bastassem tamanhas prendas intellectuaes, ainda lhe sobravam muitas outras não menos primorosas.

O poder de observação era uma d'estas.

OSWALDO era um observador impenitente. Embora não o quizesse havia de observar insensivelmente tudo quanto lhe passasse ao alcance dos sentidos, que os tinha todos apuradissimos. Pode-se dizer sem receio de erro qu o seu cerebro funccionava constantemente como um possante machnismo de observar e raciocinar, parando sómente durante as horas do somno.

Nada lhe escepava á observação: desde os phenomenos altamente scientificos até as cousas apparentemente insignificantes. N'um passeio, n'uma visita e até nas horas que deviam ser de repouso mental, os seus meios de percepção estavam sempre a trabalhar. E em tudo a observação se fazia acompanhar de uma analyse profunda, confirmando

assim o pensamento de ALEX BAIN, que considera o talento analytico como um dom natural, peculiar ao observador e que indica um espirito scientifico.

Mas o que lhe dava ainda maior cunho scientifico ao espirito eram os seus dotes de experimentador, desde muito cêdo revelados.

Recem-chegado a Paris, conseguira um modesto lugar de aprendiz no Laboratorio de Toxicologia, onde parece que, a principio, não lhe dispensavam muita hospitalidade, como acontece mais ou menos de regra em taes casos. Emfim, sempre lhe ensinavam alguma cousa quasi sempre banalidades por Elle acatadas apparentemente como si fossem lições magistraes. No emtanto, um bello dia, ou porque lhe desejassem pregar uma *peça,* ou porque já havia conquistado a confiança dos technicos, o facto é que lhe apresentaram um serio problema a resolver: o cadaver de um individuo accidentalmente intoxicado n'um quarto de dormir. Tratava-se de saber si o envenenamento fôra produzido pelo gaz de illuminação ou pelo de carvão vegetal usado para aquecimento domiciliario. Na primeira hypothese, os herdeiros teriam direito a uma indemnisação; na segunda, nada haveria a reclamar. Só o exame pericial poderia orientar a justiça.

OSWALDO dedicou-se ao problema de corpo e alma, estudando-o sob todos os aspectos. Chegando, porém, a conclusões negativas, emprehendeu resolvel-a á luz de sua intelligencia: primeiramente, fez diversos ensaios *in vitro,* e depois submetteu differentes animaes, especialmente coelhos, á intoxicação por um e outro gaz, analysando-lhes meticulosamente o sangue, chegando, emfim, a estabelecer padrões definitivos não só para esses como para outros casos.

Assim, um joven de vinte e poucos annos adopta com uma clarividencia admiravel, o rigor e a logica do methodo experimental, que lhe vem a dar a chave de um enigma scientifico. Valeu-lhe isso a admiração de seus mestres (VIBERT e OGIER, entre outros) e de eminentes medicos legistas de varias nacionalidades, dos quaes recebeu demonstrações de significativo apreço, taes como um convite para ir á Allemanha travar relações pessoaes com um dos magnatas da especialidade. E annos depois, já no Brasil, ainda lhe chegava ás mãos, com expressiva dedicatoria, a obra de um auctor russo em que apenas se percebia o nome do nosso patricio, frequentemente citado por entre as rebarbativas expressões da lingua de TOLSTOI.

Esse episodio é uma especie de miniatura intellectual do homem. Ahi se acha confirmado o conceito. de A. BAIN, uma das grandes auctoridades da *scientia scientiarum,* quando este diz que « nada se deve affirmar sem a garantia da experiencia ». Ahi se pode acompanhar o desdobramento logico de um espirito, desde a analyse rigorosa, o raciocinio irrefragavel, até a volição decidida do scientista capaz de enfeixar na clareza de uma synthese perfeita as conclusões indestructiveis que a sagacidade do experimentador soube desentranhar de um assumpto até então trevoso. (*)

———

Outra faculdade muito apreciavel era a attenção.

Ninguem ignora que é esse um dos esforços intellectuaes mais fatigantes. Citam-se como dignos de nota e apontam-se como peculiares ás poderosas cerebrações alguns exemplos de individuos com capacidade para se concentrarem n'um só assumpto, por muito tempo, ininterruptamente. O proprio AUGUSTO COMTE refere que, após 24 ho-

(*)—*Études sur la recherche des l'empoisonnement par le gaz d'eclairage*—Annales d'Hygiène publique et Medicine legale-1898.

ras de meditação continua, concebeu «a systematização total da philosophia positiva».

Pois quem quer que tenha convivido com OSWALDO sabe de quanto era capaz a sua attenção.

N'uma celebre reunião de delegados de saúde, prolongada até ao raiar do dia, fôra Elle o mais resistente, não perdendo um só dos pontos capitaes do regulamento sanitario (o famigerado *codigo de torturas*) que então se discutiu e se ultimou.

Nas primeiras sessões de resumos de revistas, quando ainda o pessoal não tinha a pratica de condensar em poucas palavras o resultado das suas leituras, os relatorios arrastavam-se lentamente até tarde da noite, ás vezes até ás 4 horas da madrugada (tendo começado ás 8 da noite) com indizivel sacrificio por parte dos moços, que só á custa de muito café mal se mantinham acordados, mas quasi todos desattentos. Entretanto, no Mestre o gráu de attenção permanecia o mesmo, sendo por isso o unico a quem não escapava nenhum dos artigos resumidos, nem mesmo quando o assumpto e o relator se caracterisassem por uma inaturavel displicencia.

Por conseguinte, si devemos acompanhar o eminente psychologo cuja obra nos tem orientado n'esta imperfeita dissecção espiritual; si attribuirmos á attenção um papel preponderante nos actos volitivos, temos que essa invejavel faculdade, em OSWALDO, representava um dos pontos de apoio de sua vontade forte, que é a virtude por excellencia dos grandes caracteres, dos vencedores da vida.

Effectivamente, o Mestre parece haver nascido para mandar e commandar. Tivesse vindo ao mundo n'aquelles tempos heroicos, em que a vida se limitava a preoccupações guerreiras, teria sido general e dos mais celebres nos fastos da historia. Como, porém, lhe pulsava um coração feito de nobres e generosos sentimentos, ao surgir na Patria armado cavalleiro do bem, declarou guerra de morte á Morte, subjugando-a e vencendo-a em combates singulares, adextrando os lidadores que deviam succedel-o na arena das luctas, tornando-se, emfim, o maior bemfeitor do Brasil, no sentido realmente philantropico do vocabulo.

E si ha um fluido mysterioso que promana da vontade dos fortes e se communica a todos os que o cercam, sem duvida Elle o teve no mais alto gráu, distinguindo-se dos seus semelhantes por esse condão talvez inexplicavel que se chama força moral, prestigio etc.

Sem o amparo de nenhuma corrente partidaria, sem o dom da palavra improvisada, sem a catadura ameaçadora dos farrabrazes, sem a petulancia dos mandões, aquelle homem esquivo, sobrio, delicado, era um poder entre os poderes da nação. Sentado á sua meza de trabalho, cabisbaixo, ora com o lapis a garatujar bonecos, ora com os dedos a espalhar em forma de leque os fios do bigode, exercia uma auctoridade superior á de muitos ministros e potentados, ante a qual se curvavam graudos funccionarios protegidos, politicos poderosos, *et caterva.*

O Senador PINHEIRO MACHADO, sempre tão cioso da sua magestade republicana, ao ouvir uma vez a lengalenga de um correligionario que se julgava offendido por uma das negativas moralizadoras do Mestre e contra este reclamava represalias e picuinhas por parte do Congresso Nacional, o temeroso general gaucho teve uma phrase bastante significativa:

— N'essas questões do OSWALDO eu não me metto.

Assim, vivia Elle intransigente onde tudo são injuncções e transigencias. Por isso mesmo o respeitavam como um

ente excepcional e intangivel. Seus inimigos, na maioria, o eram por traz das cortinas: em sua presença, todos mellifluos e cheios de zumbaias; pelas costas, heroes da maledicencia e da hypocrisia.

———

Como complemento da força de vontade ha ainda a assignalar o poder de inhibição, essa virtude tão cara aos britannicos e tão apreciavel na alma latina do marechal JOFFRE.

Entre os attributos espirituaes do Mestre, o dominio de si mesmo não era dos maiores.

Citemos apenas um facto que pudemos observar com nitidez.

No Maranhão, quando se despedia do mundo official, dos collegas e admiradores que foram leval-o a bordo, entregaram-lhe á ultima hora um telegramma urgente em que se narrava com côres pessimistas o incendio do almoxarifado da Prophylaxia da Febre amarella, a dependencia mais importante da repartição sanitaria do paiz. Terminada a leitura, guardou o despacho e, voltando-se para o governador do Estado e outros circumstantes, retomou o fio da palestra como si nada houvesse occorrido.

E d'esse modo todas as formidaveis tormentas da sua vida eram dominadas por um forte apparelho contensor. As hediondas cartas anonymas, em tal numero que já não sabia como occultar aos olhos apprehensivos da familia; as reiteradas ameaças de morte, com que em nome do « amor por principio, a ordem por base e o progresso por fim », procuravam acovardal-o alguns arautos da revolta contra a lei da vaccina obrigatoria; em summa, todas as luctas moraes em que se achou envolvido para a defeza dos seus objectivos humanitarios e patrioticos, tudo isso raramente passava além da orbita da sua consciencia.

———

Haveria ainda muito a estudar n'esse riquissimo escrinio. Mas faltam-nos tempo e competencia. Competencia, sobretudo, porque já não é pequena a ousadia do leigo que, embora a mêdo, intenta analysar uma das mais opulentas organizações mentaes que ainda perlustrou o scenario da vida publica no Brasil.

Vamos, portanto, terminar este ligeiro ensaio psychologico. Não o faremos, comtudo, sem uma rapida menção ao predicado mais bello, mais nobre, mais alto de todos aquelles que exornavam a alma do Mestre.

Referimo-nos ao ideal, centelha divina que eleva alguns homens acima do nivel commum da humanidade. Porque foi esse raio de luz eterna que lhe illuminou a róta gloriosa por onde o seu espirito de eleito passou luctando e vencendo.

XXV—Um sonho não realisado.

Era amicissimo das crianças. Como Christo, amava todos os pequeninos, quer fossem bellos, feios, pobres, ricos, ou doentes. Ninguem como Elle sabia entreter um recem-nascido ou conversar com os pirralhos de 3 annos para cima, contando-lhes historia, que as sabia adequadas á idade de cada um.

Paraphraseando aquelle celebre misanthropo, que quanto mais conhecia o homem mais gostava dos cães, Elle poderia dizer que quanto mais desvendava a alma humana mais adorava as criancinhas.

Agora imagine-se que thezouros de affectos lhe transbordavam do coração paterno...

———

Foi, portanto, com especial contentamento que uma vez em Bello Horizonte, recebeu um convite para visitar uma casa de instrucção primaria.

Levaram-n'o a um dos grupos escolares mais frequentados d'aquella epoca. Percorreu-o, examinando tudo attentamente. Deteve-se os momentos da pragmatica em cada classe; ouviu com alegria os canticos infantis; mas não se mostrou satisfeito com as formalidades do protocollo mais ou menos adoptado em taes casos. Quiz assistir a uma aula que Elle mesmo indicou: do 1º anno. Sentou-se ao lado da professora e deixou-se ficar em silencio todo o tempo, vendo e ouvindo com religiosa attenção.

Quem o deparasse em tal attitude poderia dizer que o sabio se havia transportado espiritualmente para uma grande capital européa onde se deliciava com uma conferencia de desusado valor scientifico.

No emtanto, era uma das primeiras lições do chamado «methodo da palavração», que se ia iniciando cheio de preconicios nos nossos centros didacticos. OSWALDO procurou informar-se a respeito d'esses assumptos, Elle que vinha ainda da soletração, ou quando muito, da syllabação. Finalmente, dirigiu palavras de agradecimento e parabens á professora, affirmando que nunca lhe fôra dado observar nada mais edificante do que aquella sessão de esculptura intellectual, em que a mestra, qual artista incomparavel, ia transformando e embellecendo, a um só tempo, algumas dezenas de almas embryonarias.

E ao tornar á casa, n'um passeio pelo parque municipal, ora pensativo, ora a indagar da percentagem de analphabetos, ora a aventar outras questões concernentes ao magno problema nacional, infelizmente ainda não resolvido, o grande politico (na exacta e nobre accepção da palavra) sustendo o passo, de olhos fitos nas serranias do horizonte, já então esmaecido em lindos e indiscriptiveis tons violaceos deixou fugir uma idéa que lhe aflorou sorrindo aos labios:

— Ahi está um serviço que eu seria capaz de prestar ao Brasil.

XXVI—As duas ultimas glorificações.

ALPHONSE DAUDET tem um conto lindamente suggestivo: «*La legende de l'homme à la cervelle d'or.*»

Trata-se de um joven que nascera com a cabeça de ouro e, quando vem a descobrir que é senhor de tal riqueza, sahe pelo mundo a esbanjal-a.

Um dia casa-se com uma creaturinha adoravel e exigente, a quem liberaliza conforto e luxo principescos até que se exgota a curiosa mina. Entretanto, morre-lhe a mulher, e o infeliz mancebo, no auge de uma paixão delirante, suppondo ainda servir aos caprichos de sua amada, dilacera com as unhas o craneo carcomido e, semi-morto, arranca as ultimas esquirolas douradas, cheias de sangue...

Fóra do mundo da fantasia, não haverá homens assim?

*
**

Desde longa data o Mestre soffria de uma nephrite chronica. Mas só Elle conhecia o seu estado, que tratava de occultar cuidadosamente a todos, mórmente a familia.

Assim, aquelle organismo desfalcado de forças physicas tinha sobre si responsabilidades tremendas, que sustentava impavidamente, como si fôra o individuo mais robusto que houvesse sobre a Terra.

De repente, porém, n'uma noite de Novembro de 1908, sobreveiu-lhe uma crise agudissima que revelou aos olhos dos medicos amigos — Drs. SALLES GUERRA e CARLOS CHAGAS — o verdadeiro gráu de adiantamento da molestia. Foi um ataque de uremia.

Cedendo então aos rogos de tantas possoas queridas, consentiu em adoptar o regime dietetico adequado, que, como é sabido, consiste em supprimir total-

mente o sal dos alimentos. Uma vez resolvido a esse secrificio, acceitou-o com a sua habitual força de vontade, adaptando-se sem relutancia ás intragaveis comidas insulsas. Note-se, comtudo, que para isso devia ter concorrido a sua natural frugalidade, pois n'esse particular só lhe conheceramos uma predilecção: pelos doces. Por bem dizer, era o assucar, que o alimentava. As refeições, comia muito pouco; mas chegando á sobremeza, acceitava todas as veriedades de doces que lhe offereciam. E até na sua meza de trabalho, por entre livros, papeis e os inseparaveis vasos de flores escolhidas, encontrava-se tambem uma artistica *bonbonière*, onde nunca faltavam confeitos exquisitos que o original *gourmet* ia saboreando emquanto meditava as suas obras gloriosas.

———

Depois da mencionada crise, equilibrou-se-lhe relativamente a saúde, de sorte que ainda lhe foi possivel a conclusão de varios emprehendimentos de valor, taes como a campanha anti-amarillica do Pará, a representação brasileira no Congresso da Hygiene de Dresde, a installação definitiva do Instituto Oswaldo Cruz, fundando a sua escola scientifica de modo definitivo — moral, intellectual e materialmente.

Mas não foi longo o periodo de treguas concedido pelo mal.

Em principios de Agosto de 1906 sobreveiu-lhe um edema pulmonar. E nunca mais se restabeleceu o equilibrio n'aquelle organismo talado pela doença e consummido pelo trabalho. Emmagreceu, a tez tornou-se-lhe engelhada, côr de cera; angustiava-o uma dyspnéa frequente; o coração sempre a baquear; o brilho dos olhos a pouco e pouco desapparecendo; emfim, aquella compleição apparentemente vigorosa entrou a decahir, desfigurando-o a ponto de não parecer o mesmo homem.

Sem embargo do grave estado de cachexia cardiorenal, o grande perdulario, á maneira do moço *à la cervelle d'or*, no seu extremado amor á Patria, acceita ainda o convite do governo fluminense para assumir a direcção da Prefeitura de Petropolis.

Por um milagre de energia moral, o que lhe falta em vigor physico é sobejamente compensado pela fortaleza de espirito. Immediatamente, toma como secretario o Dr. J. PEDROSO, seu antigo companheiro na Saúde Publica; delinêa e inicia em parte um plano de remodelação e embellezamento da pitoresca cidade; estabelece normas de economia e moralidade administrativas, expungindo a praga da politicagem, actuando com a mesma clarividencia, o mesmo animo do luctador de outros tempos.

Tanto basta que para certos elementos de um *partido* local, particularmen- vulnerado por taes medidas, desenvolva contra o Prefeito a mais deshumana das campanhas opposicionistas que jamais se poude conceber. Para isso, mercê da chamada liberdade de imprensa, que desgraçadamente prospera á sombra das nossas leis, o referido grupinho monta um jornaleco e todos os dias se deleita a conspurcar os louros de um sabio benemerito.

A despeito de tudo, o administrador caminha desassombradamente e idealiza um programma que por nossa desdita desappareceu com a mente que o architecta, mas que deveria ser uma especie de codigo municipal, um perfeito paradigma para todas as edilidades nacionaes e até extrangeiras.

Infelizmente o *morbus* ia em fatal progressão que Elle cada vez mais dissimulava no seio da familia, procurando sempre poupar-lhe os soffrimentos moraes que lhe causaria o seu irremediavel padecer.

Mas um dia, ao limpar os oculos desgraciosos que passara a usar e que

tanto lhe desfiguravam o bello semblante varonil, disse a CARLOS CHAGAS, n'um minuto de excepcional e dolorosa confidencia:

— Está tudo perdido. Agora é o descollamento da retina...

Sem que ninguem soubesse, o Mestre estava cego de um dos olhos! E para subtrahir mais essa dôr aos seus, conseguiu occultar-lhes o triste facto até ao fim, com uma cautela e uma serenidade nunca vista.

No emtanto, a morte approximava-se com todo o seu cortejo de torturas, das quaes as que o martyrisavam mais cruelmente eram os longos accessos, de soluços, que o prostravam insomne e exhausto. Entrementes, a cachexia accentuava-se. A respiração e o pulso perdiam completamente o compasso. Por fim, o gigante tomba no leito para não mais se erguer. Não obstante, ainda lhe restam as derradeiras energias para cumprir os deveres do seu cargo, e lá lhe vae ter ás mãos, todos os dias, o expediente que Elle assigna graças a um esforço que a qualquer outro seria impossivel.

Mas como tudo tem um limite, e o affecto sempre foi uma das poucas armas efficazes contra aquelle espirito intransigente, conseguem os infatigaveis medicos que o doente passe o exercicio ao substituto legal.

*
**

Acabam de soar as noves badaladas no convento dos Franciscanos.

N'um tranquillo recanto da rua Montecaseros, com frente para a collina onde se acha o cemiterio, demora um solar antigo situado n'um jardim florido de hortencias. Um lustre encarnado, ao alto da varanda cingida de trepadeiras rubras, illumina suavemente as escadarias. No salão de visitas, tambem vermelho, tudo é silencio e escuriddão. Na sala de jantar algumas pessôas cabisbaixas falam á surdina, pisando na ponta dos pés. Ao lado, n'um quarto, á luz mortiça de um *abat-jour,* jaz extendido ao leito o vulto offegante de um homem.

Subito, ao longe rebôa um alarido confuso. O doente entreabre os olhos, ergue a cabeça como quem procura distinguir melhor a algazarra. O cansaço, porém, fal-o tornar á primitiva posição. Mas, a atoarda recomeça mais forte, chegando distinctamente ao aposento, apezar dos esforços da familia, que corre a fechar todas as portas e janellas, com o intuito de sustar aquella invasão de sons estridentes e desordenados. O enfermo, todavia, mais uma vez alça a fronte, aguça o ouvido e indaga:

— Que barulho é esse?

E logo um coração amigo informa-lhe sorrindo:

— É o carnaval: um *cordão* que passa a tocar o *Zé-pereira.*

O Mestre retruca apenas com um ar de incredulidade.

N'esse mesmo momento, sóbe n'um crescendo a extranha musica de pancadaria. Escutam-se perfeitamente grosseiros estridulos que repercutem com vehemencia. O doente reprime a custo a dyspnéa e, n'um olhar em que revive por instantes a chamma de outr'ora, diz aos circumstantes:

— É uma manifestação...

Era-o, de facto; mas as latas de kerozene e gritos da ralé, que n'um offertorio de gentilezas proprias de hyenas excitadas vinha trazer ao ex-Prefeito o testemunho do seu regosijo pela provavel restituição do governo municipal a camarilha que o explorava. Era a politica de campanario em toda a sua hediondez macabra, n'um esganiçar de abutre impaciente. Era o tropel dos estercorarios que avançavam pressurosos com o adubo moral para a vivificação da Arvore da Immortalidade que em breve havia de emergir da sepultura de um heroe.

———

Dias depois, n'aquelle mesmo silen-

cio triste da rua Montecaseros, ouvem-se as nove badaladas nocturnas do convento dos Franciscanos.

Na ante-sala, conchegados como um grupo de aves timidas ao presentir uma tormenta, estão SALLES GUERRA, CHAGAS, PEDROSO, BELISARIO PENNA e membros da familia. Conversam sobre a crueldade da agonia que se estira n'um longo estado comatoso; rememoram-se beneficios recebidos d'aquelle discreto coração; recapitulam-se todos os valores da vida prestes a extinguir-se; lamenta-se a grande desgraça que vae abater o Brasil. E como que a resumir todos os conceitos, n'uma concisão admiravel, salientava-se uma phrase commovida de SALLES GUERRA:

— Foi o homem mais perfeito que até hoje tenho conhecido.

Era a voz da Posteridade que se antecipava na sua real e nobre glorificação.

Dez minutos depois expirava OSWALDO CRUZ.

XXVII—Um pouco de genealogia.

Não sendo commum, entre nós brasileiros, o uso dos archivos de familia, não nos foi possivel investigar completamente, por falta de tempo, a formação do grande tronco genealogico de onde proveiu OSWALDO CRUZ. O pouco, que conseguimos, devemos á obsequiosidade de varias pessôas da mesma familia e aos esforços do Sr. WALDEMIRO DE ANDRADE, thezoureiro do Instituto, conterraneo do Mestre, a cuja memoria vota acendrado culto de gratidão.—

———

Só nos foi possivel chegar até aos Avós, que pelo lado paterno são: o Sr. BENTO GONÇALVES CRUZ, negociante de fazendas, á rua do Senado, no Rio de Janeiro, e D. (*) GUILHERMINA RIBEIRO FEIJÓ.

Eram relativamente abastados, para aquelle tempo, pois tendo ambos fallecido jovens deixaram cerca de 80 contos aos seus unicos filhos: BENTO: (Pae de OSWALDO) e Emilia, que ficaram orphãos em tenra idade. Esta mais tarde casou-se e foi morar na provincia, onde morreu logo após, sem deixar descendencia.

Os dois menores foram creados pelo tio materno, Sr. JOSÉ PINTO DE MAGALHÃES, tambem negociante de fazendas, á mesma rua, e sua Esposa D. GERTRUDES MARIA GOMES DE MAGALHÃES, os quaes não tinham filhos. Infelizmente, o tutor não teve sorte no commercio, perdendo não só os seus haveres como a propria fortuna dos tutelados. Entretanto, na consideração que o Dr. B. CRUZ dispensava aos seus Paes adoptivos, chegando a convidal-os para padrinhos do seu primogenito; no carinho que o Mestre e todos os seus prodigalizavam á Viuva MAGALHÃES está a melhor prova de que a bôa senhora soube ser um modelo de segunda Mãe.

Comtudo, não foi sorridente a vida dos dous irmãosinhos. A orphandade e a pobreza se ajuntaram para tornal-a amargurada, especialmente a do Dr. BENTO, que tinha a vencer obstaculos innumeraveis para attingir á posição que conquitou, mercê dos seus exclusivos esforços.

O Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ nasceu na cidade do Rio de Janeiro, á rua do Senado, aos 30 de Janeiro de 1845. Ainda estudante de medicina, of-

(*)—Foi esse o nome que encontramos na certidão de casamento do Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ. Mas este, na sua these inaugural, dá differentemente o nome sua Mãe: D. GUILHERMINA PINTO GONÇALVES CRUZ. É quasi certo que a verdade esteja deste lado, não só porque merece toda fé a palavra do Dr. B. CRUZ, como tambem porque se chamava JOSÉ PINTO DE MAGALHÃES o irmão da mesma senhora.

fereceu seus serviços á Patria, por occasião da guerra contra o tyranno LOPES. Acceitou-os S. M. o Imperador, nomeando-o « alumno pensionista do Exercito em operações contra o governo do Paraguay » e designando-lhe dia de embarque. A hora da partida, porém, lá não appareceu o moço voluntario, o que muito contristou os seus collegas OSCAR BULHÕES e FURQUIM WERNECK, que tambem honraram o nome brasileiro. Convencidos de que o seu companheiro faltara ao cumprimento do dever, os ditos estudantes permaneciam quedos ao pé da amurada, quando de subito divisaram ao longe um escaler a todo o panno, com um passageiro a fazer angustiosos signaes para bordo. Assestados os binoculos, reconheceram o seu condiscipulo faltoso. Immediatamente procuraram o commandante, puzeram-n'o ao par da occurencia, e dentro em pouco o retardatario chegava ao portaló subindo por uma escada de cordas. Soube-se então que o joven official do corpo de saúde custara a vencer as derradeiras resistencias da familia, que elle não quiz deixar sem tranquillisar affectuosamente.

Depois foi BENTO CRUZ, ainda estudante, transferido para a Marinha de guerra, no posto de « 2º cirurgião contractado da Armada Imperial », recebendo por fim uma condecoração pelos relevantes serviços prestados: a medalha da campanha do Paraguay.

Aos 30 de Novembro de 1870 sustentou these perante a Faculdade de Medicina, tendo dissertado sobre « Diagnostico differencial das molestias do coração », com proposições sobre « topographia e climatologia da cidade do Rio de Janeiro (cadeira de hygiene) », sobre « urethrotomia (cadeira de operações) » e « estudo chimico das aguas potaveis (cadeira de chimica mineral) ». Entre as diversas dedicatorias se contavam uma especial ao Prof. TORRES HOMEM, de quem fôra discipulo e amigo.

Terminado o curso, após tantos e tão differentes trabalhos e luctas, pensou o Dr. CRUZ em iniciar a clinica no interior de uma das provincias proximas da Côrte. Sabedor d'isso, o seu amigo e collega Dr. CANDIDO JOSÉ RODRIGUES DE ANDRADE convidou-o para irem juntos a S. Luiz do Parahytinga, onde exercia as funcções de juiz municipal o seu irmão Dr. JOÃO CANDIDO RODRIGUES DE ANDRADE, austero magistrado e magnanimo cidadão, em cuja casa se hospedaram. Após 3 mezes de experiencia, voltou o novel clinico ao Rio, onde se casou com sua prima-irmã D. AMALIA TABORDA DE BULHÕES, aos 7 de Outubro de 1871, na matriz de S. Antonio.

Sua Esposa era filha legitima dos professores publicos, Sr. PEDRO CORREA TABORDA DE BULHÕES e D. ZEFERINA JOSEPHA PINTO DE BULHÕES, ambos residentes em Petropolis, onde nascera D. AMALIA, aos 13 de Novembro de 1851. Realizado o casamento, installou-se o casal em S. Luiz, recomeçando o Dr. CRUZ a sua vida afanosa, já agora edulcorada pela presença de um anjo domestico, pois D. AMALIA foi verdadeiramente prototypo da heroina do lar e da companheira amantissima.

D'esse feliz consorcio, nasceram, ainda em S. Luiz: OSWALDO, aos 5 de Agosto de 1872; EUGENIA, fallecida em tenra idade; AMALIA, que mais tarde veiu a se casar com o Dr. JOAQUIM CANDIDO DE ANDRADE, eximio gynecologista, amigo inseparavel de OSWALDO e já fallecido. Depois, no Rio de Janeiro, vieram á luz: ALICE, hoje viuva do Sr. SAMUEL FERREIRA DOS SANTOS, distincto chefe da contabilidade da Prefeitura; NOEMI, casada com o grande pintor J. BAPTISTA DA COSTA, director da Escola Nacional de Bellas Artes; HORTENCIA, já fallecida, que

foi esposa do honrado negociante Sr. FRANCISCO RUSSO. Todas as irmãs do Mestre teem descendencia.

———

Do povoado do Parahytinga, que desde o tempo dos bandeirantes se fundara á margem esquerda do rio do mesmo nome, originou-se a cidade de S. Luiz do Parahytinga, elevada á categoria de séde de municipio por ordem regia de 31 de Março de 1773. Suas terras confinam com as dos municipios de Taubaté, Lagoinha, Cunha, Parahytinga, Natividade e Ubatuba. Dotada de clima delicioso, produz café, fumo, algodão, canna de assucar, mandioca, feijão, etc. Nas suas mattas se encontram excellentes madeiras de construcção e muitas plantas medicinaes, aromaticas, etc. A população do municipio era, até 1916, calculada em 17.800 habitantes, segundo o almanack de LAEMMERT, de onde tiramos esses dados.

O predio onde nasceu o Mestre fica na parte alta da cidade, na rua que tem o nome de OSWALDO CRUZ. É uma construcção terrea bem antiga, sem estylo nem gosto, como a maioria das moradas que os portuguezes edificavam nos tempos coloniaes.

S. Luiz apresenta o mesmo aspecto somnolento das cidades antigas do interior do Brasil: todas as casas com um feitio mais ou menos uniforme, caiadinhas de branco, cobertas por velhas e ennegrecidas telhas, romanas, sem platibandas, com janellas pesadas do typo « guilhotina », sempre ermas e tristonhas, no remanso de uma paz silenciosa.

Não conhecemos, infelizmente, a cidadezinha onde nasceu OSWALDO. Mas tudo nos leva a crer que ella tem o mesmo encanto suave, languido e poetico das outras pobresinhas, suas irmãs nossas conhecidas, que procuram enconder a decadencia do presente nas saudades das grandezas perdidas do passado. N'um estylo inconfundivelmente primoroso, já MONTEIRO LOBATO as pintou todas—as queridas « cidades mortas »—sem se esquecer de as malferir com a sarça-ardente da sua ironia scintillante. Tudo tambem nos leva a crer que a celebrada « onda verde » por ahi passou, talvez, ha bastante annos, legando ao municipio as asperas terras resequidas, e ao villarejo alguns sobrados vasios, para acampar mais ao sul, sempre na faina da sua opulencia transitoria e destruidora.

Sim, o Mestre, como o Nazareno, nasceu humilde para esparzir pelo mundo as munificencias do seu espirito. E é justamente por isso que os seus fieis amigos e discipulos vão agora levar á soledade do seu torrão natal aquelle mesmo carinho que os bons filhos tributam ás mãesinhas velhas e pobres, restaurando-lhes as forças ao calor do conforto moral que ás vezes opera milagres imprevistos.

***

Em S. Luiz morou o Dr. CRUZ até 1877, anno em que se transferiu para o Rio, tendo ido clinicar no bairro do Jardim Botanico.

Aos 26 de Janeiro de 1886 foi nomeado, por D. PEDRO II, Membro da Junta Central de Hygiene Publica; aos 5 de Fevereiro de 1890 o governo provisorio nomeou-o para o lugar de Ajudante do Inspetor Geral de Hygiene; emfim, aos 12 de Janeiro de 1892, foi promovido a Inspetor Geral, (*) cargo em que falleceu, no dia 8 de Novembro do mesmo anno.

Para dar uma idéa da sua personalidade, transcrevemos alguns trechos do necrologio publicado por um dos jornaes da epoca (« O Figaro ») :

(*)—Esse cargo correspondia ao de Director geral de Saúde Publica. E essa coincidencia era muito grata ao coração do Mestre.

« Enlutou-se hontem a sociedade fluminense com o fallecimento do caritativo e venerando medico que ultimamente presidia a repartição de Hygiene Publica.

Não foi essa uma perda vulgar para a sciencia e para a sociedade.

O Dr. CRUZ, á custa dos esforços proprios e devido ao seu valor individual, conseguiu a ultima posição que occupava. No pouco tempo que geriu a Inspectoria de Hygiene captivou em torno de si a sympathia geral de quantos se cercaram de sua pessôa e iam ao seu gabinete buscar ordens e conselhos.

Dotado de um coração bondoso em extremo, de uma affabilidade natural em todos os seus actos e palavras, peccando antes por nimia complacencia que por natural rigor, o Dr. BENTO GONÇALVES CRUZ recebia com especial carinho os moços, animando-os a proseguir, si estudavam e cumpriam seus deveres; incitando-os, si descuravam um pouco de suas obrigações.

Era para elle um prazer ineffavel conversar alguns minutos com os medicos da nova geração. A sua organisação gasta e depauperada pela lucta da vida encerrava entretanto uma alma joven.

Palpitava-lhe o coração, illuminava-se-lhe brilhantemente o olhar, quando se deixava arrebatar na descripção das modernas descobertas scientificas. As suas cans respeitaveis não o inhibiam de estudar sempre e acompanhar o progresso moderno com verdadeiro enthusiasmo.

Tal era o homem a quem OSWALDO deveu o ser.

Parece-nos, portanto, que esse varão de raro valor não foi devidamente comprehendido pelos seus contemporaneos. Mas, em parte, isso se explica pela modestia, que lhe era incorrigivel; em parte, pela incessante lucta que teve de sustentar contra a adversidade, desde que na infancia se viu orphão de pae e mãe.

E tantos esforços, tantos trabalhos, tantas privações para chegar á meta dos seus sonhos, no mesmo anno em que devia morrer. (*)

Agora, sim, podemos comprehender integralmente um trecho tão delicado quão suggestivo de uma carta intima da primogenita do Mestre:

« Quando eramos muito creanças, BENTO e eu, pediamos a Papae para nos contar historias tristes, e era sempre um episodio da vida de Vovô que Elle nos contava ».

OSWALDO aprendeu as primeiras letras com sua Mãe, e aos 5 annos já lia correntemente; depois estudou no Collegio LAURE e em seguida matriculou-se no Collegio S. PEDRO DE ALCANTARA, onde teve por professores ZEFERINO CANDIDO, JOÃO CHAVES e outros. Fez todos os preparatorios, parcelladamente, no Externato D. PEDRO II, e venceu o curso medico em 4 annos, collando grau aos 24 de Dezembro de 1892, no mesmo anno da morte de seu Pae.

Aos 5 de Janeiro de 1893 casou-se com D. EMILIA DA FONSECA, filha do fallecido Commendador MANOEL JOSÉ DA FONSECA e D. ELISA DA CUNHA FONSECA, que lhe sobrevive.

Privado de um Pae como ha poucos, OSWALDO teve em compensação a bondade generosa dos Sogros, que lhe facilitaram os estudos na Europa e o inicio da carreira profissional, já não falando no grande affecto que sempre lhe prodigalizaram e a que Elle sabia tão nobremente corresponder.

Do seu consorcio o Mestre houve 6 filhos: ELISA, casada com o Dr. JOAQUIM VIDAL LEITE RIBEIRO, medico; Dr. BENTO OSWALDO CRUZ, medico

(*)—Sua Esposa falleceu aos 16 de Dezembro de 1921, isto é, 29 annos depois.

Dr. Bento Gonçalves Cruz

D. Amalia Taborda de Bulhões Cruz

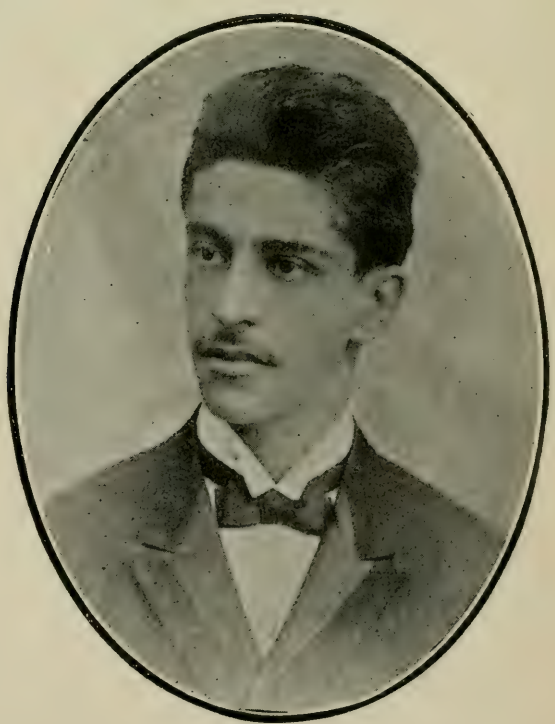
Dr. Oswaldo Cruz com um anno de idade.

Berço que serviu ao Dr. Oswaldo Cruz.

Dr. Oswaldo Cruz com 3 annos de idade.

Dr. Oswaldo Cruz com 12 annos de idade.

Dr. Oswaldo Cruz com 18 annos de idade.



Dr. Oswaldo Cruz com 20 annos de idade.

Dr. Oswaldo Cruz com 25 annos de idade. Photographia tirada em Paris com o seu filho Bento.

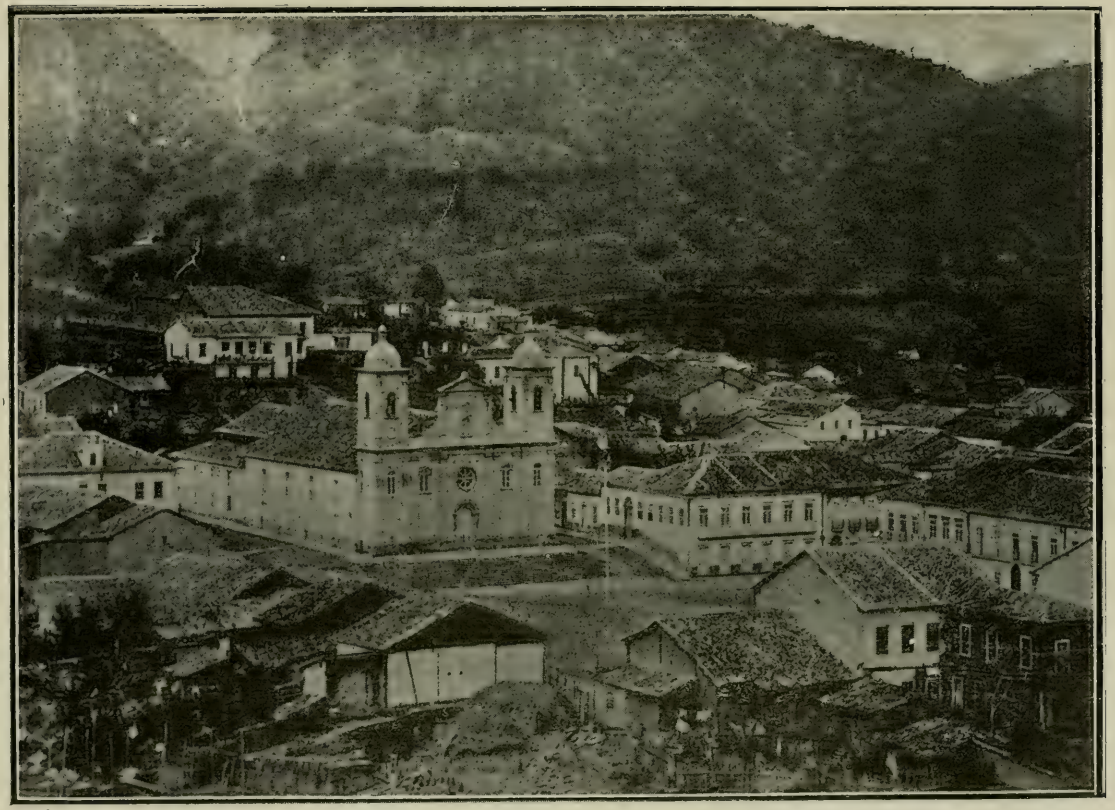
Dr. Oswaldo Cruz com 29 annos de idade.

Dr. Oswaldo Cruz com 44 annos de idade

Casa onde nasceu o Dr. Oswaldo Cruz em São Luiz do Parahytinga.

Vista panoramica de São Luiz do Parahytinga.

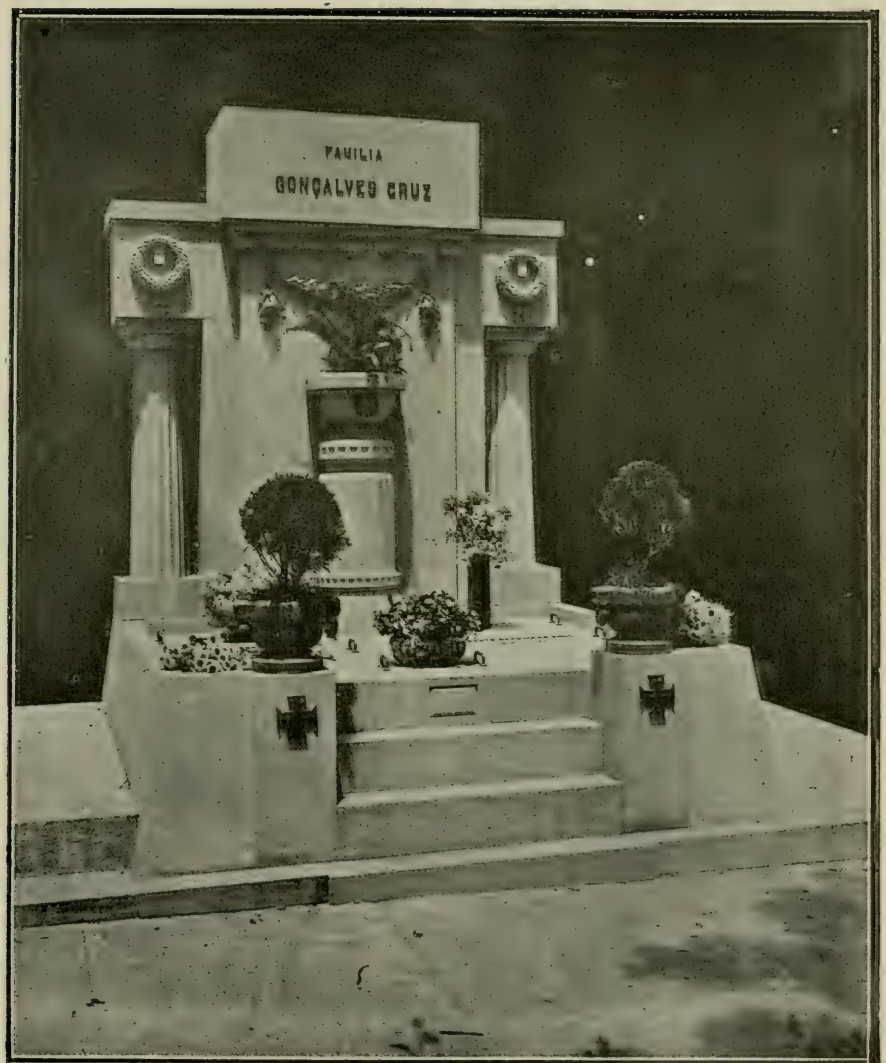
São Luiz do Parahytinga—Igreja aonde foi baptisado o Dr. Oswaldo Cruz.



Vista panoramica de São Luiz do Parahytinga.

Vista panoramica de São Luiz do Parahytinga.

Postal enviado por Oswaldo Cruz a Ezequiel Dias.



Tumulo de Oswaldo Cruz. Cemiterio S. João Baptista—Capital Federal.

e industrial; HERCILIA, nascida em Paris, mas registada no Consulado Brasileiro; OSWALDO, 3º annista de medicina; ZAHRA, fallecida com cerca de 2 annos de idade; WALTHER, estudante de preparatorios.

Elle não teve a alegria de conhecer os netinhos: OSWALDO, filho do Dr. J. VIDAL, e HELOISA, do Dr. BENTO OSWALDO, que é casado com D. MARIA LUIZA PROENÇA CRUZ.

XXVIII—Ultimas vontades (*).

« Desejo com sinceridade que se não cerque a minha morte dos atavios convencionaes com que a sociedade revestiu o acto da nossa retirada do scenario da vida. Pelo respeito que voto ao pensar alheio não quero capitular de ridiculos esses actos: julgo-os para mim completamente dispensaveis e espero que a Familia que tanto quero, se conforme com esses inoffensivos desejos que nasceram da maneira pela qual encaro a morte, phenomeno physiologico naturalissimo ao qual nada escapa. Tão geral, tão normal, tão banal é que julgo absolutamente dispensavel de frisal-a com ceremonias especiaes. Por isso desejaria que se poupasse aos meus a scena da vestimenta do corpo que bem pode ser envolvido em simples lençol. Nada de convites ou communicações para enterro, nem missa de setimo dia. Nem luto tão pouco. Este traz-se no coração e não nas roupas. Peço encarecidamente aos meus que não prolonguem o natural sentimento que trará minha morte. Que se divirtam, que passeiem, que ajudem o Tempo na bemfazeja obra de fazer esquecer. Não ha vantagem alguma de amargurar com lagrimas prolongadas os tão curtos dias de nossa existencia. Portanto, que não usem roupas negras que além de tudo são anti-hygienicas em nosso clima; que procurem diversões, theatros, festas, viagens, afim de que desfarçam essa pequena nuvem que veiu empanar a normalidade do viver de todos os dias. É preciso que nos conformemos com os dictames da natureza.

A meus filhos peço que se não afastem do caminho da honra, do trabalho e do dever, e que empunhem como fanal e o elevem bem alto o nome puro e honrado e immaculado que herdei como o melhor patrimonio da Familia, e que a elles lego como o maior bem que possuo.

A minha Esposa querida, tão sensivel, tão impressionavel, tão difficil de se conformar com as dores da nossa vida, peço que não encare a minha morte como desgraça irreparavel; peço que se console com rapidez e não deixe annuviado pela dor esse espirito vivaz, intelligente, espirituoso, que constituia a alegria do nosso lar e o lenitivo prompto para os soffrimentos que por vezes deparavamos. Ahi ficam nossos filhos, outros tantos rebentos em que vamos reviver, garantias seguras da nossa immortalidade—que se encarregarão de levar atravez do espaço e do tempo as porções de nosso corpo e de nosso espirito de que os fizemos depositarios, quando ao mundo vieram.

Quanto aos bens de fortuna que deixo, espero que sejam divididos por minha Esposa entre os filhos. Espero e rogo que *nunca* a questão de bens materiaes venha trazer a menor discordia entre os meus: seria para mim a mais dolorosa das contingencias. Peço aos meus filhos que acatem sem discussão a divisão que d'elles fizer minha Esposa ».

(*)—Muito de proposito, ahi fica sem commentarios esse pequenino codigo de amor, honra e altruismo, deixado pelo Mestre em notas ainda informes, incompletas rabiscadas a lapis. Mesmo no original, cheios de traços incertos e nervosos, observa-se a emoção que n'essa hora suprema conseguiu senhorear aquelle espirito forte e superior, ao pensar nos entes carissimos.

Noticia historica

Sobre o preparo da vaccina anti-pestosa por OSWALDO CRUZ, no Instituto de Manguinhos

pelo

DR. FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS.

Ha longo tempo tenho em mente escrever capitulos referentes á historia de factos scientificos que se passaram no Instituto de Manguinhos. Mas, a oportunidade nunca se apresentava, e, locubrações outras faziam com que retardasse este meu intento. Julgo agora, porem, asada a occasião.

O Instituto Oswaldo Cruz vae publicar um volume especial de suas « Memorias » para commemorar o centenario da Independencia de nossa Patria, collaborando n'elle todos os seus membros.

Resolvi, portanto, trazer como contigente este trabalho, no qual assignalarei todos os factos e peripecias que se passaram durante o periodo em que OSWALDO CRUZ preparou a vaccina anti-pestosa, primeiro producto bacteriologico feito segundo todas as prescripções da technica, no Brazil. Data d'ahi, indiscutivelmente, o inicio da bacteriologia scientifica na nossa Terra. E' verdade que, anteriormente, já outros se tinham occupado de tal assumpto, mas não possuiam a verdadeira technica bacteriologica, rigorosa como é, e, tanto assim que, antes desta data, a nossa sciencia não registra um unico trabalho de merito real.

Com a publicação que ora faço, o meu principal fito é tornar conhecidos os factos que se passaram no inicio do Instituto, e bem assim o esforço, a tenacidade e a enorme força de vontade dispendidas por OSWALDO CRUZ, para a obtenção desse producto biologico, n'um meio como o nosso.

A figura de OSWALDO CRUZ, infelizmente, vai-se apagando, segundo a lei natural do tempo, concorrendo porem, grandemente para isto o que se observa entre nós — o rapido esquecimento de todos e de tudo — mesmo d'aquelles que mais fizeram, e por quem deveriamos conservar uma eterna gratidão.

Acompanhei como discipulo e auxi-

liar dedicado toda a rutilante carreira de OSWALDO CRUZ, quer como scientista quer como administrador, e foi por este motivo, que escolhi, justamente, esta phase de sua vida para delle occuparme, porque a considero a mais brilhante de todas. Foi passada no silencio, entre as paredes do laboratorio, neste palco limitado onde apenas ha por assistencia os auxiliares, onde nascem e morrem grandes esperanças, de envolta com as desillusões, onde o melhor da vida do individuo é dado em holocausto á sciencia; todo o seu tempo é consumido tentando desvendar os misterios da natureza e tudo é praticado com o intuito de beneficiar a humanidade! Palco que a muitos não agrada porque n'elle não existe a galeria...

OSWALDO, durante o tempo em que montava e preparava os laboratorios, estudava os differentes processos, até então apresentados, para o preparo da vaccina anti-pestosa.

A vaccina mais usada, a que grangeara maior fama era a de HAFFKINE. Para a sua obtenção semeiava este scientista bacillos da peste em caldo, no qual eram collocados algumas gottas de manteiga de cacáo, para que os germens a ella adherissem mantendo-se sempre na superficie do meio. Os balões de caldo eram collocados na estufa a 35º, durante um mez, sendo agitados de quando em vez.

Findo este prazo é o caldo esterilisado a 70º durante uma hora. E' o proprio caldo que é empregado como vaccina na dosé de 3 a 3,5 cc. para adulto.

Esta vaccina já tinha sido usada em larga escala, principalmente na India, apresentando, indiscutivelmente, bons resultados.

Pelo modo de preparal-a, como acabamos de referir, comprehende-se, facilmente, que esta vaccina não póde ser constante na sua riqueza microbiana, dependendo isto de differentes factores, de modo que não se pode garantir, em absoluto, o numero de germens injectados. Accrescendo que se inoculava alem dos corpos microbianos caldo, que contem varios productos, muitos dos quaes irritantes e pyretogenicos. As fortes reacções produzidas por tal vaccina são attribuidas antes á inoculação do caldo do que aos proprios germens.

Varias foram as modificações propostas para substituir a vaccina de HAFFKINE, e foi do estudo d'ellas de que se occupou OSWALDO, em tempo relativamente curto, pois havia urgencia no fornecimento de vaccina para a immunisação da população do Rio de Janeiro, que estava, com toda a razão, alarmadissima com o incremento da peste, em vista de ser mais demorado o preparo do sôro anti-pestoso e os Institutos de bacteriologia europeus não poderem fornecer sôro e vaccina.

OSWALDO CRUZ publicou, em 1901, no « Brazil—Medico » sob o titulo a « Vaccinação anti-pestosa », um trabalho a esse respeito. Faremos aqui uma rapida synthese do que diz, de modo a bem se poder aprehender como resolveu o problema que lhe era proposto.

Existiam, registrada em sciencia, 4 modificações para o preparo da vacina anti-pestosa.

1ª — A da Commissão allemã, enviada á India para o estudo da peste, constituida pelos Profs. GAFFKY, PFEIFER, STICKER e DIEUDONÉ.

Propuzeram como vaccina a emulsão de bacillos da peste em agua physiologica, mortos a 65º, durante uma hora, addiccionada de acido phenico a 0,5 %. A dóse, indicada para o adulto, é a dos corpos microbianos desenvolvidos em um tubo de gelose.

2ª — LUSTIG e GALLEOTI resolveram empregar como substancia immunisante, não os corpos microbianos, mas a toxina d'elles extrahida. Os bacillos da peste, cultivados em gelose, são tratados por uma solução du potassa a 1 %. Esta

solução é, posteriormente, precipitada por acido chlorhydrico ou acetico diluido. O precipitado é lavado e secco no vacuo. O corpo resultante é a toxina, que constitue a substancia immunisante, sendo injectada, dissolvida em solução de carbonato de sodio, na dóse de 3 milligs. para o adulto.

3ª — CALMETTE cultiva o bacillo da peste em gelose. Emulsiona a cultura obtida em pequena quantidade de agua physiologica, que filtra em panno e depois em papel de filtro. Retoma os bacillos, adherentes ao papel em pequena quantidade d'agua e esteriliza-os a 70º, durante uma hora, depois do que secca-os no vacuo. Uma certa quantidade dos corpos bacillares seccos, suspensos em agua physiologica, é injectada como vaccina.

4ª — A ultima modificação é a proposta por TERNI e BANDI.

Estes autores inoculam na cavidade peritoneal de um animal (cobaya, coelho ou macaco) uma certa quantidade de cultura de peste, com o fim de produzir uma peritonite pestosa. Logo após a morte do animal, recolhem o exsudato peritoneal, que é diluido em agua physiologica, dependendo a quantidade de agua a juntar da espessura do exsudato. É esterilisado a 50—52º, durante 2 dias. Addiciona-se, então, ao liquido acido-phenico a 0,5 %, assim como uma mistura das soluções de carbonato de sodio a 0,25 % e chlorureto de sodio a 0,75 %. A dosagem da vaccina é feita de modo que cada centimetro cubico da diluição do exsudato contenha um milligr. de substancias solidas, o que é de difficil obtenção.

Esta vaccina fez epoca entre nós, porque o Prof. TERNI aqui se achava e além disto era a unica que existia.

O curioso é que, sem grande analyse, foi muito bem acceita pela classe medica. Alguns medicos vangloriavam-se de se terem vaccinado, dizendo: fui vaccinado e com vaccina de macaco.

OSWALDO, com um sorriso enigmatico que lhe aflorava os labios em certas occasiões, tudo ouvia com muita calma, e, fixando o interlocutor com o olhar penetrante e bom, deixava-o fallar...

Estudando estes differentes methodos de preparo de vaccina, verificou os inconvenientes que cada um apresentava sobrelevando a todos a falta de uma dosagem rigorosa. A dóse para o adulto, que os autores indicam nos seus respectivos methodos, varia muito, e não se pode ter certeza da quantidade de germens que se inocula.

Do aprofundado estudo feito da analyse rigorosa dos differentes processos, pezando os prós e os contras, que cada um apresentava, resolveu OSWALDO preparar a vaccina apresentada pela Commissão allemã, que lhe pareceu a mais simples e a mais inocua. Mas, como n'ella, igualmente, não era indicado uma dosagem segura, concebeu fazer a dosagem da vaccina anti-pestosa por methodo ponderal que offerece segurança absoluta na quantidade de germens a injectar. Foi a primeira vez que em bacteriologia empregou-se a balança para tal mister.

Foi nessa occasião que OSWALDO CRUZ iniciou o preparo de producto biologico até então quasi desconhecido, para o qual não havia technica bem determinada e processo seguro de dosagem, tendo ainda de lutar com o já estabelecido — a vaccina anti-pestosa — preparada pelo Prof. TERNI, extrangeiro illustre, scientista com grande renome, e já acceita sem discussão por nossas autoridades sanitarias e pela classe medica.

Bem firmado, portanto, no que resolvera e tendo terminado a installação dos laboratorios, começou OSWALDO a trabalhar no preparo da vaccina anti-pestosa.

A primeira difficuldade que encontrou foi a falta de cultura virulenta de peste. É verdade que o veterinario CARRÉ, contractado para prestar serviços ao

Instituto, tinha trazido culturas de peste do Instituto Pasteur, de Paris. Mas, devido ao tempo em que estiveram sem serem transplantadas e principalmente inoculadas, estavam completamente avirulentas, o que se verificou quando, com ellas, foram inoculadas cobayas que não morreram.

Não me furto ao desejo de aqui referir o que se passou por occasião da inoculação da primeira cobaya.

Resolvida essa inoculação, OSWALDO teve que acompanhar, ensinando, o preparo do crystalisador onde permaneceria o animal, assim como a adaptação da téla de cobre, de malhas finas, que o deveria cobrir, para evitar a entrada de insectos sugadores.

Ha de parecer extranho que fosse o proprio OSWALDO, quem preparasse esta parte, em geral, comettida a serventes, mas é preciso saber que, n'essa occasião, elle só tinha 3 auxiliares — eu, medico e 2 estudantes de medicina ANTONIO FONTES e EZEQUIEL DIAS, sendo para nós inteiramente desconhecida a bacteriologia. OSWALDO fez questão que seus auxiliares possuissem esta bôa qualidade, como dizia elle, pois que assim educar-nos-hia e nos prepararia á sua vontade e a seu geito.

Estando prompto o crystalisador, foi collocado o animal no seu interior e levado para a sala onde ia ser feita a inoculação.

Apanhei, então, o apparelho de contensão e levei-o commigo.

Ao ver-me perguntou-me OSWALDO: para que isto?

Para prender a cobaya, respondi.

Mas não é necessario, a cobaya vae ser segura com as mãos.

Com as mãos? e por quem? interpelei.

Por você.

Por mim?

Sim, mas caso você não queira eu seguro e você injecta, retrucou, fitando-me fixamente.

Mostre-me como se segura o animal e estou prompto, disse-lhe eu, embóra sentisse, confesso, um certo receio...

Realmente, OSWALDO indicou-me como se mantinha o animal; fiz o que me ensinava e elle apanhando a seringa já cheia de cultura, injectou-a.

Ambos estavamos commovidos, eu principalmente; as nossas respirações eram curtas e apressadas. Quando soltei o animal dentro do crystalisador, respirei profundamente, acabava de retirar um grande pezo de cima de mim. Olhei para o OSWALDO, que se ria, estando, porém' com o rosto coberto de suor, o que tambem me succedia... perguntou-me, então se o medo já tinha passado...

Muitas e muitas vezes quando conversavamos sobre os primordios do Instituto, recordando o passado, referiamo-nos sempre a este facto de cuja sensação e detalhes nunca nos esquecemos, o que nos fazia rir gostosamente.

Tendo verificado a virulencia das culturas trazidas por CARRÉ, soccorreu-se OSWALDO da cultura de peste, que isolára em Santos, quando ahi esteve para fazer o diagnostico da epidemia reinante. Esta, porem, estava tambem avirulenta.

Começou, então, a empregar os differentes meios, aconselhados em sciencia para tornar virulentas os germens pathogenos avirulentos. O que melhor resultado deu foi a inoculação de acido-lactico na cavidade peritoneal de um animal e, algum tempo depois, a inoculação de cultura. Com este processo conseguiu provocar a morte de uma cobaya por peritonite pestosa. O exhudato colhido foi injectado immediatamente no peritoneo de uma pequena cobaya de 4 dias, que succumbira rapidamente. Foram feitas assim re-inoculações em serie, obtendo-se em pouco tempo um germem altamente virulento.

Até a obtenção d'este resultado era grande a preoccupação de OSWALDO na incerteza de poder conseguir um virus,

que se prestasse á realisação do seu desideratum.

Por occasião da autopsia da primeira cobaya morta de peste, deu-se um accidente verdadeiramente dramatico.

Tendo OSWALDO verificado sabbabado, á tarde, que o animal inoculado estava bastante doente, combinou commigo virmos no dia seguinte, domingo, ao Instituto, afim de autopsiar o mesmo. Com effeito, ás 7 horas da manhã ahi estavamos.

A cobaya ainda estava viva, porém, moribunda, motivo pelo qual foi resolvido matal-a com chloroformio, pois assim haveria certeza da obtenção de culturas puras de seus orgãos.

Havia no antigo bioterio, hoje destruido, um pequeno forno para incineração de animaes, cujo corpo ficava dentro do bioterio abrindo-se a porta, porém, para o lado de fóra. A chaminé de ferro corria por dentro da sala, atravessando o telhado por entre os caibros de madeira.

O forno foi logo acceso para que se incinerasse o cadaver do animal logo após a autopsia.

No interior do laboratorio, hermetimente fechado, só estavamos o OSWALDO e eu, com longas blusas e botas de borracha; os serventes espiavam atravez janella. A emoção de que todos estavamos possuidos era grande.

Tomadas as precauções necessarias, que, aliás, foram exageradas, como é de prever, começou OSWALDO a autopsia.

Pouco depois sentia-se um forte cheiro de madeira queimado, o que era attribuido ao forno.

Aberto já o animal quando o OSWALDO dispunha-se a fazer a colheita dos orgãos, olhei casualmente para cima e verifiquei que os caibros, em contacto com a chaminé, estavam pegando fogo. Chamei a attenção de OSWALDO, que, olhando calmamente disse-me: temos tempo de terminar a autopsia e depois apagaremos o fogo.

Fez com maestria consummada a colheita e sementeira do material, empregando os minimos detalhes da autopsia. Terminada a autopsia e protegida a cobaya com folhas de papel de filtro, embebidas de solução antiseptica, foi collocada a mesma em lugar afastado.

Tratamos então de apagar o incendio, que já estava tomando proporções maiores.

OSWALDO fez-se subir para cima do forno, cujo fogo fôra retirado, externamente, pelos serventes, e elle, em pessôa, ia a porta buscar baldes cheios d'agua que os empregados lhe traziam. Assim procedia porque estes não estavam protegidos com as blusas nem calçados, não querendo, portanto, que assim penetrassem no bioterio. Com alguns baldes de agua, felizmente, foi extincto o fogo. Devido a este accidente foi temporariamente condemnado o forno, que só se utilisou novamente depois da chaminé de ferro ter sido revestida de tijollos.

Os animaes autopsiados, durante este interregno, eram collocados no autoclave, para serem devidamente esterilisados e após queimados.

Foi assim obtida, partindo-se de uma raça avirulenta do bacillo da peste, por passagens successivas em cobayas, uma raça altamente virulenta, que se poderia dizer quasi fixa, porque matava os animaes, em geral, em 5 dias.

Estava assim OSWALDO de posse do indispensavel para o preparo da vaccina.

Conforme dissemos, OSWALDO tinha resolvido preparar a vaccina segundo o methodo apresentado pela Commissão allemã. O unico ponto fraco que elle encontrava era a dosagem, porque a Commissão recommendava como dóse para o adulto a inoculação dos germens. desenvolvidos em um tubo de gelose. Concluia dahi com todo a razão, que variando igualmente e muito a maneira de semeial-os, não poderia haver um criterio

seguro na adoptação de tal indicação como dóse. Resolveu, por este motivo fazer a dosagem ponderal, verificando qual o pezo dos corpos microbianos desenvolvidos em um tubo de gelose. Assim mantinha a dosagem indicada pela Commissão allemã, mas de um modo seguro e rigoroso.

Para chegar a este resultado mandou preparar gelose pelo FONTES e EZEQUIEL, estudantes de medicina, incumbidos nessa epoca, do preparo dos meios de cultura, e com ella foram preparados varias centenas de tubos de gelose, de modo que elles variasse não só a quantidade de gelose como tambem a superficie de inclinação. Os tubos de gelose apresentam sempre no fundo, uma certa quantidade de liquido, proveniente da agua de condensação. Como porém, o OSWALDO necessitasse que a gelose estivesse secca, retirou dos tubos que iam servir para o ensaio, a agua, aspirando-a, com uma paciencia admiravel, por meio de uma pipeta de bola. Conservou-os ainda intactos durante 2 dias, não só para que a gelose seccasse bem pela evaporação como tambem para verificar si os tubos de gelose não se contaminaram durante a operação.

Foram, então semeiados por OSWALDO e por mim, um grande numero de tubos, variando o modo de espalhar a semente, de maneira que se obtivesse um desenvolvimento sinão muito variavel ao menos não muito uniforme depois do que foram postos na estufa a 35º durante 48 horas. Findo este prazo collocou OSWALDO uma certa quantidade de agua physiologica dentro de cada tubo, com o fim de destacar a cultura emulsionando-a. Recolheu, então, a emulsão de todos os tubos por meio de uma pipeta de bóla, reunindo-as em um balão Pasteur. Esta emulsão foi esterilisada a 65º, durante 1 hora, em estufa. O reservatorio do thermometro, que ia marcar a temperatura interna da estufa, estava mergulhado em agua physiologica, contida em um balão, identico ao que continha a emulsão bacillar, de modo a se ter a temperatura real do liquido.

Com a agua physiologica, que servira para retirar os corpos microbianos, continha além destes chloreto de sodio e productos soluveis da gelose, foram tratados, do mesmo modo que os tubos semeiados com peste, numero igual de tubos de gelose da mesma partida.

A agua que serviu para a lavagem d'estes tubos foi, igualmente, recolhida por meio de uma pipeta de bóla e reunidas em um mesmo balão.

OSWALDO, tendo resolvido fazer a dosagem da vaccina por pesada, e como o Instituto não possuisse uma balança de precisão, fez vir para o Instituto uma de sua propriedade, de longos braços e sensivel ao 1/10 de milligr. e que oscilava... um tempo infinito, antes de parar. Realmente era um martyrio pesar em tal balança, principalmente, porque era exigida por OSWALDO a dupla pesada.

Quando OSWALDO fallava em pesar, o FONTES e o EZEQUIEL ficavam atonitos e aprehensivos até que fosse indicada a victima, que seguia heroicamente para o martyrio sem a mais leve recriminação. Com effeito, durante 1 hora, no minimo, ficava-se sentado defronte da balança que oscillava eternamente... A pesada só era acceita depois de verificada por OSWALDO, quando era cousa de maior responsabilidade. N'esta epoca o grande mestre era de uma exigencia desmesurada. Pois foi nesta balança que se fez a dosagem da vaccina.

Em capsula de platina, previamente tarada foi evaporada, em banho maria, toda a emulsão baccilar. Finda a evaporação foi a capsula collocada em um dissecador, em presença de acido-sulphurico onde permaneceu durante 24 horas. Foi, então, pesada, tendo-se obtido o peso dos corpos microbianos, mais chlorito de sodio e productos soluveis da gelose, retirada, bem entendido, a tara da capsula.

A agua de lavagem dos tubos da gelose, não semeiados, foi tratada pelo mesmo processo, obtendo-se, assim o peso das substancias n'ella contidas.

Retirando este peso do da emulsão, obteve OSWALDO o peso dos corpos microbianos, que dividido pelo numero de tubos usados, deu o peso dos corpos microbianos contidos em um tubo de gelose, dóse aconselhada para adulto pela Commissão allemã.

O peso obtido foi de 2,5 milligs. por tubo de gelose.

Preparou então OSWALDO, a vaccina, isto é, suspensão de corpos microbianos em agua physiologica, phenicada a 0,5 % em que cada 2 cc. continha 2,5 milligs. de germens mortos.

A principio eram preparadas pequenas partidas, pois ellas iam apenas servir para a experimentação animal.

O animal de escolha foi a cobaya.

Eram sempre constituidos lotes, cada um de 12 animaes, que eram inoculados com differentes dóses de vaccina em série crescente, até a dóse maxima.

Para que não houvesse confusão entre os animaes, inoculados, eram descriptos pelas côres, manchas e respectivas localisações. Isto constituia um trabalho enfadonho, para o qual OSWALDO exigia grande rigôr. Além disto, para que os animaes fossem mais facilmente reconhecidos, eram marcados com differentes côres, em partes diversas do corpo. Excuso dizer que estas descripções eram feitas por nós.

Tomava-se o peso e a temperatura dos animaes antes da inoculação, e o mesmo era feito, diariamente, depois.

O primeiro animal doente foi para OSWALDO um verdadeiro tormento, manologando com o olhar perdido—será peste! ? O animal foi immediatamente isolado em crystalisador, tomando-se todas as precauções, como se realmente o fosse.

A cobaya, quando prestes a morrer, foi sacrificada. Todos os seus orgãos semeiados e delles foram feitos esfregaços, que immediatamente foram corados e examinados, não tendo o exame microscopico mostrando um unico germen.

Quando no dia seguinte iamos para o Instituto, OSWALDO, de quando em vez, dizia-me: VASCONCELLOS as culturas estarão estereis? Notava-se perfeitamente, que a ideia o perseguia. Assim chegemos ao Instituto, dirigiu-se, mesmo sem mudar de roupa e vestir a blusa, para a estufa. Abriu-a e ao ver os tubos de caldo perfeitamente estereis riu-se, a sua physionomia expandiu-se, nella reflectia-se o prazer de que se achava possuido, todo elle vibrava e com um riso alegre e bom mostrava-me as culturas, apresentando um ar de triumphador. Na verdade, acabava de conquistar a mais bella das victorias: a victoria da sciencia.

A vaccina foi experimentada em varios lotes de animaes e como por esses ensaios ficasse convencido de que a dóse immunisante estava bem determinada, chegou a conclusão de que poderia ser inoculada no homem.

Um dia, ao terminar os trabalhos, chamou-me e disse-me: vamos ensair a vaccina no homem, vamos-nos inocular eu e você. Confesso que a ideia não me agradou muito, mas desde que o Mestre queria...

De facto encheu uma pequena seringa de ROUX com 2 cc. de vaccina e entregando-m'a, disse-me: injecta-me. Fiz a antisepcia da pelle do flanco e inoculei-lhe a vaccina.

Depois elle vaccinou-me.

Ficou combinado, então que nos observariamos cuidadosamente e que tomariamos a temperatura de 2 em 2 horas.

A noite, como estivesse perfeitamente bem, apenas sentindo um pouco de dôr no ponto da inoculação, fui visital-o. OSWALDO teve um verdadeiro prazer em ver-me; abraçou-me e no seu abraço amigo comprehendi toda a ventura que lhe ia n'alma, a emoção da victoria o arre-

batava ao mesmo tempo que o sensibilisava, mas estes sentimentos que procurava occultar, conforme o seu habito, transpareciam claramente. Estava em seu gabinete de estudo e fez-me collocar o thermometro para verificar que ainda não apresentava reacção thermica.

OSWALDO apenas teve ligeira elevação de temperatura e dôr no ponto de inoculação.

No dia seguinte, á hora habitual, tomavamos o trem com destino a Manguinhos.

A tarde d'este dia, pouco antes de sahirmos, foram inoculados o FONTES e o EZEQUIEL; era o segundo lote de cobayas bipedes... na phrase de OSWALDO. Estes tambem só apresentaram ligeira reacção thermica e pequena dôr no ponto da injecção, o que não os inhibiu de, no dia seguinte, comparecerem ao Instituto.

Foram, igualmente, inoculados os serventes: o velho MUNIZ, o ANTONIO, seu filho, o ARTHUR LEITE e o MANOEL CALDEIRA. Estes sentiram dôr no ponto e apresentaram, tambem, elevação de temperatura, a excepção do MANOEL CALDEIRA.

O velho MUNIZ e o seu filho ANTONIO já falleceram. Aqui deixo, aproveitando a oportunidade, registradas as saudades que sinto, destes companheiros do inicio do Instituto. Foram bravos trabalhadores e muito concorreram para a grandeza da obra de OSWALDO CRUZ; embora modestas fossem as collocações que nelle exerceram.

Estava assim a vaccina perfeitamente ensaiada e foi resolvido o seu fornecimento

Por esta rapida descripção podem os leitores, caso os tenha, apanhar a psychologia do grande OSWALDO CRUZ. Adquiriu bem os elementos de certeza de de que a vaccina era inocua e só depois de convencer-se de que perigo algum poderia correr quem com ella se injectasse, é que forneceu-a... si lhe restasse a minima duvida seria incapaz de o fazer. Com o seu proceder manifestava-se o verdadeiro homem de sciencia que era.

Para distribuir a vaccina teve OSWALDO que ideiar um apparelho, que até hoje é usado no Instituto.

A principio era elle proprio quem distribuia e eu ao lado fechava as empôlas á lampada. Quando estavamos cançados nos revesavamos. Isto depois era feito pelo FONTES e EZEQUIEL. O apparelho esteve sempre prompto, de modo que quando havia serviço urgente, OSWALDO designava dois que deviam occuparse de tal mister, para descançar, conforme dizia... mas a verdade é que, no fim de algum tempo, o cansaço era grande e as costas doiam pela posição curvada e forçada em que se ficava.

As empôlas eram, depois de cheias, immersas em agua, dentro de um grande calice. D'ahi eram retiradas, enxutas e collocadas dentro de alcool, donde depois de enxutas e perfeitamente limpas, eram rotuladas. Collado o rotulo, como ficesse sempre o excesso de gomma, eram novamente lavadas as extremidades. Só então, eram embrulhadas em grupo de cinco, nas bullas, para serem acondicionadas entre pastas de algodão, nas caixas de madeira, que continha, cada uma 100 dóses.

Tudo, desde o preparo da vaccina, distribuição até o acondicionamento, era feito por seis pessôas: OSWALDO, FONTES, EZEQUIEL, os serventes ANTONIO e ARTHUR e por quem escreve estas linhas. Ás vezes, porém, quando havia urgencia, entravam tambem na funcção o velho MUNIZ e o MANOEL.

Muitas e muitas vezes sentavamos todos, em torno de uma meza, no centro do laboratorio, na labuta da vaccina. Reinava, admirem os formalistas, a mais franca camaradagem e alegria. OSWALDO, o director, pilheriava e todos, inclusive os serventes riam-se gostosamente. Estes intervinham ás vezes com apartes

que eram bem recebidos e tinham a merecida retribuição.

Uma vez, o FONTES, que não tinha grande habilidade manual para a rotula-e empacotamento da vaccina, impacientou-se e disse: não sei para que tanto cuidado, acho isto exagerado. Ao que retrucou OSWALDO: Bem FONTES, de hoje em diante, vamos embrulhar a vaccina em pedaços de jornal velho, e assim será melhor. Houve uma gargalhada geral; o FONTES a principio, desconcertou, mas tambem não se poude conter e acompanhou o terço, rindo-se alegremente com todos.

Felizes tempos!

Apezar da liberdade concedida, OSWALDO era absolutamente respeitado e qalquer de nós seria incapaz do mais ligeiro abuso. Não era um director, mas sim um amigo, que tudo obtinha de seus auxiliares, desde o mais graduado até o mais humilde, pelo seu modo de tratar e pela sua bondade. Infelizmente, parece, levou o seu segredo para o tumulo...

E era assim que se trabalhava em Manguinhos...

O que acabo de referir é pouco conhecido, ou antes, só mesmo nós que fazíamos parte do Instituto, em seu inicio, é que guardamos estas recordações com carinho.

Ao escrever estas linhas, despertando-se-me no cerebro factos que pela impressão produzida nunca se apagaram, só tive em mira tornar publica, segundo penso, a mais bella pagina da vida de OSWALDO CRUZ.

Eis a razão de ser do meu trabalho. quero que no meio das festas commemorativas do centenario da nossa cara Patria, não seja esquecido OSWALDO CRUZ, o grande mestre, que tanto a amava e que tanto concorreu para o seu engrandecimento e prosperidade, com a creação do Instituto, que guarda o seu nome, e com a extinção da febre amarella.

Elle ahi está... é um marco muito modesto que aproveito a oportunidade para elevar ao meu inesquecivel Mestre e amigo e cujo unico fito é assignalar a fundação, pelo mesmo da bacteriologia no Brazil. A mim serviu para avivar aquelles tempos felizes, de que sempre me recordo com infinitas saudades.

Instituto Oswaldo Cruz, Julho de 1922.

Descoberta do Tripanozoma Cruzi e verificação da Tripanozomiase Americana

RETROSPECTO HISTORICO

pelo

DR. CARLOS CHAGAS

Director do Instituto Oswaldo Cruz.

Na descoberta da trypanozomiase americana, e principalmente nas indicações de raciocinio que ahi nos valeram resultados definitivos, encontramos nova directriz para pesquizas experimentaes similares, destinadas a esclarecer problemas obscuros de pathologia humana.

Foi essa uma verificação biologica realizada sob moldes inteiramente diversos daquelles que, de regra, conduzem ao reconhecimento etio-pathogenico das doenças, ou augmentam a nozologia de novas entidades morbidas. E porque assim é, uma vez que nessa descoberta verificam-se aspectos interessantes e incidentes aproveitaveis á orientação dos pesquizadores, vimos referir os factos de modo minudente e exacto, delles salientando os pontos de maior valia.

A verificação da doença precedeu aqui a descoberta do parazito que a occasiona, e quando no sangue peripherico de uma creança febricitante, observamos o flagellado pathogenico, de sua biologia já possuiamos noção completa, adquirida em demorados estudos anteriores.

Mais vale, para maior clareza e elucidação deciziva do assumpto, referir os factos em sua sequencia ininterrupta:

A occurrencia de grande epidemia de malaria em operarios do Governo, nos Trabalhos de construcção da Estrada de Ferro Central do Brasil, no valle do Rio das Velhas, fez com que fosse solicitada, pelo Ministro MIGUEL CALMON, providencias a OSWALDO CRUZ. Este attendeu pressuroso á solicitação e, empenhado em proseguir nas campanhas anti-paludicas, com exito executadas em outras regiões do paiz, resolveu confiar-me o encargo das medidas sanitarias.

Em companhia do Dr. BELISARIO PENNA, por mim convidado para auxi-

liar da missão, segui para os sertões mineiros e lá nos installamos nas margens do Rio Bicudo, onde permaneciam, retardados pela intensa epidemia, os trabalhos da via-ferrea. Iniciamos ahi a prophylaxia da malaria e della conseguimos resultados dos mais propicios, o que permittiu o proseguimento regular dos serviços de construcção.

Mais de um anno permanecemos naquella zona, sem que houvessemos sabido da existencia alli, nas choupanas dos regionaes, de um insecto hematophago, denominado vulgarmente barbeiro, chupão ou chupança. Já nessa epocha tivemos opportunidade de realizar vasta observação clinica, e de estudar numerosos casos morbidos nos habitantes da região, tanto naquelles sujeitos á infecção paludica, porque residiam em valles de grandes e pequenos rios, quanto ainda em outros, que habitando zonas mais ou menos elevadas e montanhosas, nenhum signal apresentavam de malaria.

E desde então foi-nos penosa a absoluta impossibilidade de classificar, no quadro nozologico conhecido, muitos dos casos morbidos que se offereciam a nosso estudo. Nem valiam, para elucidação do diagnostico, os recursos experimentaes do laboratorio, e nem decidiam os elementos da semiotica mais segura e meditada. Alguma cousa de novo, nos dominios da pathologia, ahi perdurava desconhecida, e se impunha a nossa curiosidade.

Numa viagem a Pirapora, e quando pernoitavamos, o Dr. BELISARIO PENNA e eu, no acampamento de engenheiros, encarregados dos estudos da linha ferrea, conhecemos o *barbeiro*, que nos foi mostrado pelo Dr. CANTARINO MOTTA, chefe da commissão de engenheiros.

Referidos, que nos foram os habitos domiciliarios do insecto, sua hematophagia e abundante proliferação em todas as habitações humanas da região, ficamos desde logo interessados em conhecer o barbeiro na sua biologia exacta, e principalmente em verificar a hypothese, surgida immediatamente, de ser elle, acaso, o transmissor de algum parasito ao homem, ou a outro vertebrado.

O papel de diversos hematophagos na trasmissão de doenças humanas, e na de algumas trypanozomiases de mammiferos, orientou agora meu raciocinio e levou-me a conseguir novos exemplares do insecto, afim de pesquizar no tubo digestivo delles, ou nas glandulas salivares, qualquer parasito, do qual fosse o barbeiro o hospedador intermediario. Dissecando os insectos, *no intestino posterior de cada um encontrei numerosos flagellados, que apresentavam as caracteristicas morphologicas de crithidias.* Esta verificação conduziu-me a duas hypotheses: Ou seria o flagellado observado parazito natural do insecto, sem qualquer acção pathogenica, ou representaria estadio evolutivo de um hemoflagellado de vertebrado, quiça do proprio homem.

Anteriormente havia eu encontrado nova especie de trypanozoma nos macacos do genero callithrix (callithrix penicilata); e dada a frequencia da infecção dos saguis pelo *trypanozoma minasensi*, especie por mim descripta de modo minucioso, suspeitei fossem as crithidias, observadas no intestino posterior do barbeiro, phase evolutiva desse trypanozoma, que seria então transmittido pelo insecto. E como na região todos os macacos se mostrassem parasitados, as experiencias da transmissão, visando a hypothese formulada, não poderiam ser realizadas, em virtude de uma causa de erro inevitavel. Foi essa a razão de haverem sido enviados por mim diversos insectos ao meu inolvidavel mestre OSWALDO CRUZ, afim de que fossem elles alimentados em macacos do genero callithrix, e que estivessem livres de infecção pelo trypanozo-

ma minasensi. Decorridos 20 ou 30 dias, quando de regresso a Manguinhos, examinei o sangue de um dos macacos, que estivera em contacto com os barbeiros, e no sangue peripherico delle *verifiquei a presença de um trypanozoma,* supposto, no primeiro momento, e antes da caracterização morphologica pelos methodos de technica, ser o *trypanozoma minasensi.* Immediatamente após a verificação do flagellado no estado de vida, pelo exame do sangue entre lamina e laminula, fiz preparações microscopicas fixadas e coradas, no intuito de reconhecer a especie ou de caracterizal-a como nova. E dest'arte verifiquei que o trypanozoma observado apresentava aspecto morphologico diverso do observado no trypanozoma minasensi, e não mostrava semelhança com qualquer outra especie do mesmo genero. Tratava-se, sem duvida, de um trypanozoma novo, caracterizado principalmente pelo tamanho de seu blepharoplasto, o mais volumoso de quantos eu conhecia, situado na extremidade posterior do flagellado (lado opposto ao do flagello livre)

Depois de haver estudado a morphologia do novo parasito, iniciei pesquizas relativas a sua biologia. Em experiencias repetidas, consegui novas infecções de laboratorio, não só em macacos do genero callithrix, quanto ainda em cobayas, coelhos e pequenos cães. Taes infecções, algumas vezes obtidas pelas picadas do insceto, sobretudo o foram pela inoculação dos flagelados encontrados no intestino. Assim, e em demoradas pesquizas, caracterizei definitivamente o trypanozoma como especie nova e estabeleci, em experiencias irrecusaveis, o papel transmissor do barbeiro. Por outro lado, reconheci as propriedades pathogenicas do trypanozoma, que occasionava a morte, em tempo variavel, dos pequenos animaes de laboratorio, as mais das vezes por septicemia, sem que os parazitos desapparecessem do sangue peripherico. Outras pesquizas realizei sobre o assumpto, concernentes ao duplo cyclo evolutivo do trypanozoma, nos vertebrados e no insecto transmissor, ás formas evolutivas no intestino do barbeiro, á cultura artificial do protozoario, etc.

E foi depois disso, depois de adquirido amplo conhecimento do trypanozoma, na sua morphologia, na sua biologia geral, na sua acção pathogenica, que iniciei a segunda parte de minhas pesquizas, aquella de resultados mais salientes no que respeita á pathologia humana.

A nova especie de trypanozoma foi por mim denominada trypanozoma cruzi, em homenagem ao Mestre, de inapagavel recordação, a quem tudo devo na carreira scientifica, e que neses estudos me foi o orientador de largas vistas, o conselheiro de todos os momentos, o espirito de luz e de bondade, sempre pressuroso em dispensar-me os beneficios de seu saber e em abrigar-me na grandeza de seu affecto. É mais delle do que meu o pequeno patrimonio da minha vida profissional, e nesses trabalhos quanto exista de proveitoso, eu attribuo, com ufania e sinceridade, á valia de seus ensinamentos ao exemplo de sua fé, á influencia decisiva de seu animo forte e de sua alma abnegada sobre quantos tivemos a bôa ventura de encontral-o na vida e delle receber o influxo bemfazejo, que decidiu de nossos destinos.

Eis a verdade exacta, no que respeita á descoberta do trypanozoma cruzi conhecido até aqui apenas como trypanozoma de vertebrado, de especie desconhecida, e transmittido pela picada de um insecto. Este foi reconhecido como *triatoma megista* Burm. pelo Dr. ARTHUR NEIVA, que delle esclareceu, em demorados trabalhos, toda a biologia.

Nesta primeira phase de nossos tra-

balhos, ha que salientar, como de maior interesse, o reconhecimento, pela primeira vez, do papel de um hemiptero na transmissão de parasitas, Foi essa uma verificação do mais alto alcance para a biologia geral, e por si constituia já acquisição scientifica de real importancia.

Passo agora a referir a descoberta do trypanozoma cruzi no homem, e a verificação da nova doença.

Voltando ás regiões infestadas pelo triatoma, era meu intuito reconhecer o hospedador vertebrado do trypanozoma cruzi, porquanto o macaco, inicialmente infectado pelo insecto, e os animaes de laboratorio nos quaes eu havia realisado pesquizas, todos elles representavam infecções experimentaes, que não determinavam o hospede habitual do parazito.

A difficuldade no interpretar os casos clinicos da região, e a suspeita, fundamentada em cuidadosa observação e em demoradas pesquizas de laboratorio, da existencia de um estado morbido que escapava á identificação com qualquer doença do quadro nozologico conhecido, esses factos, sobre os quaes vinha eu de longe raciocinando, e que me levaram a hypothese de um factor etio-pathogenico ignorado, constituiram o ponto de partida das pesquizas realizadas. Accrescia a circunstancia primordial de ser o triatoma megista um insecto domiciliario, cujo habitat é constituido, talvez de modo exclusivo, pelas residencias humanas, e cuja alimentação é realizada de preferencia no homem, durante o repouso nocturno. Sendo assim, e raciocinando com elementos fornecidos pela biologia dos hemo-parazitos, era de admittir que o flagellado do tubo digestivo do hematophago, cuja alimentação principal é o sangue humano, fosse experimentando lenta e progressiva adaptação ao meio sanguineo, e num dado momento de sua evolução philogenetica pudesse tornar-se parazito do homem. Até aqui lidava eu em pleno dominio de hypotheses, fundamentadas sem duvida, em razões biologicas exactas, mas, que exigiam confirmação decisiva. Fallava-me então o conhecimento valioso, posteriormente adquirido, da frequente enfecção de tatus (tatusia novemcincta) mesmo em regiões deshabitadas, pelo trypanozoma cruzi. Esta verificação, completada pelo achado do *triatoma geniculata*, infectado pelo trypanozoma nos buracos de tatu, levou-me a convicção, justificada em argumentos varios, de que o hospedador natural e ancestral do parazita é realmente o tatú, representando a infecção humana o resultado de uma adptação posterior.

De accordo com este ponto de vista, difficilmente combativel, porque militam em favor delle não só factos de observação positiva, quanto ainda argumentos irrecusaveis de ordem biologica, ficaria explicada a existencia de triatomas infectadas, em regiões onde a doença é desconhecida. Alguns observadores allegam, de facto, no intuito curiosissimo de recusar acção pathogenica ao trypanozoma cruzi, que o barbeiro tem sido observado em algumas zonas do Brasil, e em outros paizes, com flagellados no tubo digestivo inoculaveis em pequenos animaes de laboratorio, e que apezar disso, a doença não foi verificada me taes regiões.

Em primeiro lugar, seria de bom aviso, referir as pesquizas clinicas e experimentaes, que demonstram a inexistencia da doença, cujo diagnostico parazitario, nas formas chronicas apresenta difficuldadse reaes, e, as mais das vezes, só poderá ser realizada post-mortem. E quanto aos casos agudos, para surprehendel-os, tornar-se-hia necessario alguma permanencia nas regiões citadas. Mais valeria ahi, para excluir a existencia da trypanozomiase, realizar observações clinicas minuciosas, baseadas em

conhecimentos exactos dos signaes semioticos, que caracterizam a doença nas suas principaes modalidades. Só depois disso poder-se-ia affirmar que nesta ou naquella zona, neste ou naquelle paiz, existe o triatoma infectado, com parazitos inoculaveis em pequenos animaes de laboratorio, sem que a infecção humana seja verificada.

Admittamos, porém, que seja de todo ponto verdadeira a observação dos oppositores e desaffectos da trypanozomiase americana; nessa hypothese a menos que se pretenda chegar ao absurdo de insistir em que a doença é um mytho, apezar do acervo immenso de observações clinicas, de verificações de necropsias e de dados experimentaes que demonstram, de sobra, seu interesse scientifico e sue importancia social, a menos que assim seja, devemos interpretar o facto referido e apparentemente contradictorio de minhas conclusões, admittindo que em taes regiões não se verificou ainda a adaptação do trypanozoma ao homem, e que as raças do parazita ahi observadas no organismo do hematophago, não apresentam virulencia para a especie humana. Seja como fôr, é essa uma questão a esclarecer, e jamais poder-se-á, de bôa fé, e dentro dos limites da logica e da razão scientifica, ahi encontrar argumento demolidor de factos positivos, adquiridos pela observação e pela experiencia.

Assim orientado, iniciei, a nova phase de meus trabalhos pela pesquiza do trypanozoma naquelles individuos, cuja condição morbida obscura escapava a minha interpretação. Quantas tentativas de principio realizei, visando encontrar o trypanozoma, foram sempre negativas, facto posteriormente explicado pela ausencia do parazita, do sangue peripherico, e sua localização exclusiva na intimidade dos tecidos, em taes doentes. As minhas obervações foram realizadas em residencias humanas, abundantemente infestadas de triatomas e numa dellas quando insistia na pesquiza do protozoario, encontrei um gato, evidentemente doente, em cujo sangue verifiquei a presença do trypanozoma cruzi. Nenhuma conclusão definitiva, porém, autorizava esse achado, porquanto, sendo o gato um animal domesticco que pernoita nas residencias humanas, deveria ser tambem sugado pelos insectos e não poderia constituir maior surpreza sua infecção. E, aliás, em pesquizas posteriores, repeti multiplas vezes a mesma verificação, o que me levou a considerar aquelle animal um reservatorio do parazito, e por isso mesmo um elemento epidemiologico da doença.

Insistindo em meus trabalhos, e devo affirmar que o fazia com fundamentada segurança de exito, tive opportunidade de surprehender febricitante uma creança, residente na casa onde eu havia verificado a infecção de um gato. É de referir que talvez 15 ou 20 dias antes, pernoitara eu na habitação daquella doentinha, e ahi tive ensejo de observar grande numero de insectos picando os habitantes, inclusive a creança agora febril, e que então se apresentava absolutamente hygida.

Entre os principaes signaes clinicos, apresentados pela creança, cuja febre tivera inicio 8 ou 10 dias antes de meu exame, figuravam como de maior saliencia, os seguintes: Temp. axillar 40°; baço augmentado de volume e apalpavel sob o rebordo costal; figado tambem augmentado; pleiades ganglionares; peripherica engurgitadas, etc. Era sobretudo de apreciar na doentinha uma infiltração generalizada, mais accentuada na face, que não apresentava os caracteres de edema renal, porém antes se impunha como infiltração mixedematosa. Este ultimo signal, que mais tarde veiu a constituir uma das melhores caracteristicas da doença na phase aguda, denunciava, desde logo, qualquer altera-

ção funccional da glandula thyreoide, acaso attingida pela acção pathogenica do parazito.

O exame do sangue entre lamina e laminula, revelou a presença de flagellados, em numero regular e a coloração de frottis, após fixação, tornou possivel caracterizar o parazita, na sua morphologia e identifical-o como trypanozoma cruzi, primeiro observado, sob a fórma de crithidias, no intestino do triatoma, transmittido, pela picada do insecto e pelas inoculações dos flagellados do tubo digestivo, primeiro ao sagui (callithrix pennicilata) e em seguida a diversos dos pequenos animaes de laboratorio.

Estava assim verificada a existencia de uma nova trypanozomiase humana, a segunda conhecida, e cujo parazito apresentava caracteres morphologicos e biologicos bem definidos, e inteiramente diversos dos conhecidos nas outras especies do mesmo genero. Era transmissor da nova doença, de accordo com as experiencias irrecusaveis de laboratorio, um heteroptero, do genero triatoma—o *Triatoma Megista.*

Restava agora proseguir em estudos demorados, que viessem esclarecer a pathogenia, a symptomatologia, a epidemiologia e a distribuição geographica da doença, que eu havia verificado sob a modalidade clinica de infecção aguda. Seria sempre assim, ou apresentaria a doença fórmas chronicas bem caracterizadas?. Já pelo raciocinio clinico e principalmente pelo conhecimento da condição morbida extranha dos habitantes regionaes, era eu levado a admittir na trypanozomiase, além da fórma aguda verificada, modalidades chronicas, a reconhecer e a caracterizar.

Só alguns mezes decorridos da verificação inicial foi-me possivel, reencetar meus trabalhos, visando agora o problema clinico e epidemiologico da doença, até então quasi inteiramente obscuro. Ainda aqui muito me valeu a observação anterior da nozologia regional, na qual havia eu surprehendido incognitas indecifraveis. E voltando a estudar melhor os doentes, agora sob nova orientação, procurei systhematisar os factos, afim de encontrar fundamento para generalisações posssiveis. Na symptomatologia então verificada o que mais fundo me impressionou foi a frequencia das alterações do rythmo cardiaco nos habitantes da região, especialmente naquelles de casas infestadas pelo *triatoma.* Era esse um signal de extrema frequencia, e que se traduzia as mais das vezes em extrasystoles, e não raro em pulso lento. Devemos referir que, em virtude da frequencia com que eram observadas alterações anatomicas da glandula thyreoide da região, alterações expressas em grande hypertrophia ou em augmentos apenas apreciaveis do orgão, accreditei, no primeiro momento, que as pertubações cardiacas seriam attribuiveis ao bocio. Entretanto, desde logo verifiquei não serem raros os doentes que apresentavam arythmia do coração, cuja thyreoide se mostrava normal, observação contraria a primeira hypothese formulada. Assim raciocinava sobre os elementos colhidos na semiotica physica, quando tive ensejo de praticar a necropsia de uma creança na qual havia verificado, pela presença do parazito no sangue peripherico, a forma aguda da doença. O material das autopsias, enviado ao Instituto Oswaldo Cruz, ahi minuciosamente examinado pelo nosso saudoso companheiro GASPAR VIANNA, cuja alta capacidade technica e especial competencia em anatomia pathologica nos foram da maior valia.

GASPAR VIANNA verificara, no myocardio da creança, formas parazitarias muito curiosas, localizadas dentro das fibras cardiacas, que se mostravam em grande numero, transformadas em verdadeiros kystos. Aspectos identicos do parazita foram observados em outros orgãos.

Houve então, segundo me informou

OSWALDO CRUZ, alguma duvida no interpretar as formas parazitarias observadas, opinando VIANNA em que representavam de facto, estadios especiaes do Trypanozoma Cruzi. E toda indecisão desappareceu quando, em Lassance, o meu grande mestre OSWALDO CRUZ, mostrou-me cortes e frottis do myocardio, nos quaes reconheci, immediatamente, formas parasitarias identicas as por mim obtidas nas culturas artificiaes do trypanozoma. Nenhuma duvida portanto, poderia mais substituir relativamente á observação de VIANNA, na qual ficava demonstrada a localisação do parazita, sob formas especiaes, no myocardio, dentro das fibras cardiacas. E dahi surgia, desde logo a interpretação possivel de um dos signaes clinicos mais frequentes da doença, qual o constituido pelas arythmias. De tal modo interessantes foram os resultados das pesquizas histopathologicas desta primeira autopsia, que OSWALDO CRUZ resolveu conhecer de perto meus trabalhos, e para tanto realizou penoza viagem aos sertões mineiros, onde permaneceu 6 ou 8 dias, na apreciação enthusiastica de casos clinicos e de factos experimentaes, que vinham abrir novo capitulo na pathologia humana.

Cabe-me aqui referir uma causa de erro nas pesquizas iniciaes de laboratorio, destinadas ao diagnostico parazitario da doença.

Nos primeiros estudos sobre a biologia do trypanozoma cruzi, havia eu ligado ao cyclo evolutivo, no organismo dos vertebrados, formas parazitarias especiaes, encontradas com extrema frequencia no pulmão de cobayos infectados. Foi mesmo dessa interpretação, na qual tivemos o assentimento de PROWAZEK e de MAX HARTMANN, que resultou a creação do genero schizotrypanum, para nelle incluir a nova especie de flagellado. Em virtude desta verificação, aproveitei durante algum tempo, como elemento de diagnostico parazitario, a presença das formas referidas no pulmão dos cobayos que haviam sido inoculados com sangue de doentes, suppostos infectados. Entretanto, posteriormente foi verificado, primeiro pelo Prof. CARINI e por DELANOE e depois por alguns pesquizadores de Manguinhos, que as formas parazitarias dos pulmões de cobayos nada tinham a ver com o trypanozoma cruzi, e sim representam um outro parazito, o pneumocistis. Pelo que os diagnosticos parazitarios assim realizados, ficaram de todo ponto invalidados, e havia mister fundamentar de outro modo as nossas conclusões, no que respeita ás formas chronicas da doença. E foi o que fizemos em grande numero de autopsias, nas quaes as localizações do parazito em diversos orgãos, e as lesões por elle occasionadas, amplamente justificaram o diagnostico clinico das principaes modalidades da trypanozomiase, e estabeleceram, de modo definitivo e irrecusavel, a ligação entre a causa e o effeito inevitavel. Referirei os factos com maiores minucias: Das formas agudas da doença, caracterizadas pela presença, facilmente verificavel, do trypanozoma no sangue peripherico, consegui, dentro de curto prazo. diversas observações clinicas, sobre as quaes nenhuma objecção será admissivel.

No que resta as formas chronicas não foram menos decisivas as nossas conclusões, fondamentadas no resultado de grande numero de autopsias, com a verificcação parazitaria e o estudo histopathologico correlato. Dos casos clinicos em que predominavam signaes cardiacos, obtive, muito depressa, elevado numero de observações e tambem diversas autopsias. Nestas, pela uniformidade das lesões do myocardio e pela constancia ahi do parazita, verificado em casos chronicos, demoradamente estudados durante a vida, os signaes da semiotica encontraram definitiva e irrecusavel base

anatomica, e passaram a constituir uma das caracteristicas clinicas da nova doença. Cumpre referir que, de accordo com as recentes verificações de CROWELL as lesões do myocardio na trypanozomiase americana, podem ser reconhecidas, independente mesmo da presença do parazita e constituem processo especifico bem caracterizado.

Devemos salientar, de passagem, e para contrariar a affirmativa de que apenas conhecemos raros casos da trypanozomiase, que um doente com signaes cardiacos predominantes, é, num conceito geral da doença, um infectado pelo trypanozoma cruzi, no qual ao lado das alterações do rythmo, outras são verificaveis denunciantes de processos morbidos para o lado de outros apparelhos e systhemas organicos. E avaliado o censo pelo numero de casos de forma cardiaca, seguramente os contraditores de nossos estudos haveriam os reconhecer que nada exageramos, apreciando elevadissimo, como apreciam o indice endemico da doença.

O reconhecimento da forma nervosa baseou-se igualmente em factos de observação clinica e verificação post-mortem de valor decisivo. Os casos numerosos de diplegia cerebral, de idiotia organica, de monoplegias, de aphasias, etc., observados nas zonas de nossos trabalhos, desde muito causavam funda impressão. A hypothese inicial de syphilis, factor etio-pathogenico a que, de algum modo, poderiam ser referidas aquellas condições morbidas, foi bem depressa excluida, por todos os methodos de diagnostico, tanto clinicos, quantos experimentaes, da lues. E aliás, a syphilis ao contrario da falsa tradição, constitue occurrencia de extrema caridade entre os regionaes do interior do paiz, onde só é levado pelos recem-vindos de zonas mais civilisadas e contaminadas. Desse assumpto cuidamos em outra publicação, na qual referimos, com segurança e larga experiencia, ser a *lues* desconhecida em certas zonas remotas do nosso hinterland, para onde é levada, de regra, pelas vias ferreas de penetração.

Seriam os phenomenos nervosos observados attribuiveis ao cretinismo endemico, conceito posteriormente emittido por KRAUS ? De certo que não, porque muito se distanciavam elles, para quem os observasse como pathologista e sob o criterio de exactas doutrinas semiologicas, das manifestações nervosas classicas, consideradas por diversos observadores como determinações do cretinismo. E nem hypotheses poderiam ahi decidir, senão elementos seguros de verificação anatomo-pathologica. Esta foi realizada, inicialmente, num caso de diplegia cerebral, datando de 22 annos. Tratava-se de uma doente paralytica desde os 3 annos de idade, segundo referencias da familia, e que apresentava tambem idiotia organica, com phases de excitações. O accidente de uma queimadura determinou a morte, e pela autopsia foi vereficada a presença do parazita e tambem lesões cerebraes em fóco, bem caracterizaveis. Os estudos histo-pathologicos, realizados pelo saudoso GASPAR VIANNA, não deixaram duvida a respeito do factor etio-pathogenico dos phenomenos nervosos estudados. Em seguida a esta, outras autopsias foram realizadas e entre ellas a de casos de meningo-encephalite aguda, nos quaes as localizações do parazita no cerebro, e as lesões por elle produzidas amplamente fundamentaram o reconhecimento da forma nervosa da trypanozomiase, e vieram esclarecer aspectos obscuros da nozologia regional.

Não havia, dahi, em conceito scientifico bem baseado, como recusar a existencia de perturbações nervosas da doença, pertubações attingindo a motilidade, a intelligencia, a palavra, etc., e o grande numero de casos de paralysia, de idiotia organica, de aphasia, obser-

vados nas regiões infestadas pelo triatoma, casos nos quaes se reproduziam symptomas de outros similares autopsiados, deveriam, logicamente, ser interpretados de accordo com as verificações realizadas e ser attribuidas ao mesmo factor etio-pathogenico. E, para maior fundamento de nosso conceito veiu depois a experimentação em animaes, na qual foram produzidas, em experiencias e estudos de EURICO VILLELA e de MAGARINOS TORRES, paralysias em cães e macacos, com a verificação do parazito e de lesões no systema nervoso central.

A infecção pelo trypanozoma cruzi, e como elementos residuaes de infecção adquirida nas primeiras idades, senão com toda probabilidade, como consequencias de infecção hereditaria, ligamos o infantilismo e outras dystrophias, frequentemente observadas nas regiões onde é endemica a doença. Faltam-nos aqui elementos de convicção decisiva? Mas como ligar á syphilis o infantilismo, a não ser pela illação logica dos factos e pelo raciocinio bem dirigido? E, além d'isso, possuimos a verificação parasitaria em casos de dystrophia occasionados pela trypanozomiase.

O trypanozoma cruzi, quanto o germen da syphilis, apresenta localizações bem verificadas em diversos orgãos do grande systhema endocrinico, cuja interferencia nos phenomenos geraes do desenvolvimento não mais se contesta. Assim é que nas capsulas supra-renaes, do homem e dos animaes de experiencias, as localizações do parazito e as lesões por elle occasionadas, foram de sobra demonstradas. Assim tambem nos testiculos, ovarios e glandula thyreoide. E, si taes orgãos reagem, como se verifica, á aggressão parazitaria, logico é admittir as consequencias phyzio-pathologicas de taes alterações anatomicas. Ainda aqui, em recentes experiencias, vão sendo de alta valia as pesquizas de EURICO VILLELA, que demonstram factos de encephalite hereditaria, com a presença do parazita, em cães recem-nascidos, de cadellas infectadas.

Deste assumpto, que requer larga explanação, não poderemos aqui tratar, senão referir os fundamentos essenciaes de nossa convicção relativa á etio-pathogenic do infantilismo e de outras dystrophias, nas regiões da trypanozomiase endemica.

Na primeira phase de nossos trabalhos admittimos relação de causa e effeito entre a trypanozomiase americana e o bocio *endemico nas regiões onde grassa a doença*. Foram diversos os elementos de convicção que a tanto nos levaram, alguns de ordem pathogenica, e outros baseados na epidemiologia e na distribuição geographica da trypanozomiase. Inicialmente foi a nossa attenção dispertada pela frequencia do bocio, ou de simples alterações da glandula thyreoide com hypertrophia parcial de alguns dos seus lobos, em doentes com outros symptomas. E logo nos impressionou a infiltração observada em todos os casos agudos, infiltração caracterizavel como mixedema, e que constitue signal constante de todos os doentes, na primeira phase da infecção. Tratava-se, portanto, de uma infiltração mixedematosa peculiar á trypanozomiase, na qual se traduzia a participação da glandula thyreoide no processo pathogenico. Exames posteriores, em casos agudos, demonstraram a localização do prarazita na glandula, dentro mesmo das cellulas vesiculares, e mostraram ainda processos reaccionarios iniciaes, caracteristicos de formação do *struma*. E, mais ainda, a observação demorada de alguns doentes, desde a phase aguda, permittiu acompanhar o desenvolvimento progressivo do bocio, que em alguns individuos attinge grandes proporções, e em outros fica limitado a simples hypertrophia, totaes ou parciaes, da thyreoide, Por outro lado, a ausencia absoluta do bocio, nos casos agudos, com a presença

delles, em creanças da mesma idade, e que teriam sido infectadas em epocha anterior, constituia ainda outro argumento, de grande valia, para estabelecer relação de causa e effeito entre o bocio e a trypanozomiase. Não só esses, e ainda outros argumentos de ordem pathogenica e epidemiologica, orientaram ahi conclusões. No que respeita a distribuição geographica do bocio e da trypanozomiase, verificamos, não só de observação pessoal, quanto pelas referencias de outros pesquizadores, ser constante a presença do bocio nas regiões infestadas pelo barbeiro e sua ausencia naquelles onde não existe o insecto. E nas zonas onde estudamos, foram em grande numero os individuos, entre elles creanças, livres de hypertrophia da thyreoide, porque residiam em casas onde não é encontrado o triatoma. Ao contrario, todos os habitantes das residencias infestadas mostram o bocio ou apresentam signaes de alteração thyreoidiana. E de impressionar, no interior do paiz, o indice elevado do bocio nas choupanas ruraes, mesmo naquellas situadas em torno das cidades, e a auencia de lesões das glandulas, nas pessoas residentes em casas confortaveis das cidades ou povoados, casas que não offerecem condições propicias, á proliferação do *barbeiro*. Os factores mais vezes responsabilizados pelas endemias do bocio, e entre elles a agua, ficavam excluidos, na nossa observação ,de qualquer acção no processo. Da mesma agua usavam os individuos com bocio, principalmente creanças, e outros em condições de vida absolutamente semelhantes, alimentando-se de modo identico, e que residindo em casas livres do *triatoma* não mostravam alterações da thyreoide. Estes factos e outros muitos, cuja referencia não é aqui opportuna, levaram-me a considerar o bocio *nas regiões* de trypanozomiase, como um elemento mais da doença. E até agora, porque nenhuma prova definitiva veiu modificar nosso ponto de vista permanecemos convencidos de que o bocio, das regiões onde grassa a trypanozomiase, constitue um elemento mais da doença. Entretanto, na impossibilidade de trazer ao assumpto a mesma demonstração positiva, que decidiu de outros aspectos de trypanozomiase, desde 1916, quando synthetizamos os processos pathogenicos da doença, consideramos o bocio questão a parte, sobre a qual poderia exercitar-se a divergencia entre os pesquizadores. E nestes termos consideramos ainda hoje o discutido ponto, aguardando pesquizas que invalidem nosso conceito ou que o tornem definitivo.

É de salientar aqui a actual tendencia dos pesquizadores modernos para admittir a natureza infectuosa do bocio e a hypothese de ser elle occasionado pela acção de um germen filtravel. E devemos ainda emittir nosso conceito contrario ao absurdo de se querer considerar como unico o facto etio-pathogenico do bocio, observado em diversas regiões do mundo, apezar da diversidade evidente de suas consequencias physio-pathologicas.

Ainda sobre o bocio, sobre as questões de doutrinas concernentes a sua etio-pathogenia, e principalmente sobre as relações, que consideramos existentes, de causa e effeito, entre elle a trypanozomiase americana, poderiamos aqui expender argumentos mais demorados baseados na epidemiologia e na distribuição geographica, e baseados ainda nos aspectos physio-pathogenicos do bocio endemico, nas regiões em que o estudamos. Este assumpto, porém, será objecto de novas contribuições posteriores.

Sôro contra o epithelioma ou diphteria das aves

pelo

Dr. H. Marques Lisbôa

Lidando ha muito mais de um decennio com varias molestias produzidas por germes filtraveis, que interessam especialmente á veterinaria, adquiri a convicção de que taes germes formam um grupo bem homogeneo, cujos caracteres importantes se encontram nas relações de parasitismo, e que taes caracteres podem ser assim synthetisados:

1º. Todos os filtraveis são parasitas obrigatorios, isto é, só manifestam sua actividade vital no interior de um hospedeiro, embora se possam conservar em estado de vida latente, fora do organismo. As culturas, que ás vezes se conseguem em meios especiais são de curta duração e não figuram nas collecções dos melhores Institutos, por mais completas que sejam.

2º São muito exigentes quanto ao hospedeiro: a peste dos porcos é exclusiva dos suinos, a febre aphtosa só pode ser facilmete reproduzida em artiodactilos, o epitelioma contagioso das aves mostra difficuldades de transmissão mesmo entre as diversas especies de aves, etc.

3º Nos casos em que a exigencia é menos accentuada (raiva, variola etc.) taes germes prestam-se facilmente a mutações: virus fixo, vaccina, etc. A raça assim obtida é vaccinante, e não se conhece outro meio seguro de se obter vaccina com filtraveis, porque os processos de attenuação applicaveis ás bacterias são aqui, de regra, muito falhos.

4º As manifestações morbidas, que provocam, são muitas vezes aggravadas pela associação com bacterias, em geral de fraca acção pathogenica: assim um paratyphico ou uma pasteurella intervêm na forma intestinal ou pulmonar da peste dos porcos *(Hog-cholera e swine plague);* na variola um estreptoccoco, e no epitelioma das avas um estafiloccoco, e assim por deante.

5º. O ataque ao organismo quando não é mortal, provoca immunidade, ás vezes de grande duração, como se dá na variola, no epitelioma das aves, na febre amarella, etc., e outras vezes de praso curto, como na febre aphtosa.

6º. As especies animais sensiveis ao germe produzem, contra este, sôro de valor real, como meio preventivo: assim sôro activo contra a febre aphtosa só pode ser obtido nos bovinos e suinos;

sôro contra a peste dos porcos só em porcos; sôro contra a variola dos carneiros só em ovinos, etc.

Este ultimo caracter é dos que na litteratura medica e veterinaria se encontram com algumas falhas; assim é e que para o *epitelioma contagioso das aves* as conclusões são categoricas negando-se ao sôro qualquer valor curativo e preventivo. Para apoiar a ultima affirmação: "que as especies sensiveis produzem sôro preventivo", impunha-se em primeiro lugar a verificação com esta molestia, repetindo-se as experiencias já feitas por outros pesquisadores e evitando-se as causas do erro que poderiam ter dado margem aos resultados negativos. Ahi a razão do presente trabalho.

Os estudos realizados no Posto vieram mostrar que aqui, como em outros casos, esses erros são de duas naturezas: a insufficiencia de dóse e uma *pseudo* superimmunização.

a) *A insufficiencia de dóse.* Temos em geral uma certa tendencia para fazer as verificações dos sôros com dóses insufficientes, o que nos leva frequentemente a negar valor mesmo a sôros antibacterianos e antitoxicos de grande poder curativo, como o da peste bubonica, o do tetano, etc. Nos filtraveis, Moussu, preparando sôro contra a febre aphtosa com injecções de sangue virulento, obteve sôro seguramente de valor, mas experimentou o seu effeito com 50 cm.³ o que no caso delle deveria corresponder ao terço da dose efficaz. Mas, quando os experimentadores usam doses importantes, os resultados são positivos quer na febre aphtosa, quer nas outras molestias por filtraveis, a não ser que intervenha outra causa de erro. Assim:

Na vaccina, Raynaud, entre outros, conseguiu immunizar bezerros com 250 cm³. de sôro de convalescente; e Strauss, Chambon e Ménard, com cerca de um litro (E' possivel que uma superimmunização intensa reduza esta ultima dóse a cerca de um decimo; em outra publicação voltarei ao assumpto). Kunio Sato verificou a formação de anticorpos nos coelhos inoculados quer na pelle quer na cornea.

Na variola dos carneiros, Duclerc immunizou-os com 190 cm.³ de sôro de carneiro curado, e Borrel chegou mesmo a conseguir em carneiros sôro de valor pratico, pois immuniza na dose de 15 a 20 cm³.

Na febre aphtosa, varios pesquisadores verificaram que o sôro dos animaes restabelecidos immunisava na dose de 1 litro e, Loeffer super-immunisando bovinos, baixou a dóse preventiva a 100 e 150 cm³., dóse que pode ainda ser reduzida a menos de 80, sem concentração.

Na peste bovina, algumas centenas de centimetros cubicos de sôro de animal convalescente já podem proteger, mas Kolle e Turner, Nicolle e Adil Bey e outros, pela superimmunisação, reduziram a dóse á cerca de 20 cm³.

Na peste dos porcos, o sôro fornecido pelos porcos superimmunisados é dos mais poderosos, pois já protege contra a infecção em dóses inferiores a 10 cm.³ mas, como todos os outros sôros contra filtraveis, a sua acção curativa é quasi nulla e somente apreciavel em dóses enormes e no inicio da molestia.

Na peste aviaria JUAN e STAUB conseguiram immunisar gallinhas com menos de 1 cm.³ de sôro preparado em gallinhas.

Na raiva, BABES conseguiu proteger sempre os cães, quando empregava sôro preparado em cães; MAGALHÃES conseguiu proteger bois com sôro preparado em bovinos (trabalho inedito realizado no Posto Experimental de B. Horizonte). Os sôros homologos são, como LOEFFLER e outros já verificaram, sempre mais poderosos do que os heterologos.

Nas molestias exclusivas do homem a verificação é mais difficil porque seria

necessario superimmunisar convalescentes, entretanto:

Na polymyelitis acuta, FLEXNER e LEWIS, LEVADITI e LANDSTEINER curaram macacos com sôro de convalescentes e de macacos superimmunisados; NETTER, GENDRON e TOURRAINE, NOLECOURT e DARRE', FLEXNER e ARROS conseguiram bons resultados na molestia humana empregando grandes dóses de sôro de convalescentes;

Na variola PROWAZECK e ARAGÃO verificaram no sôro colhido no decimo segundo dia um certo poder viricida; a superimmunisação daria seguramente resultados mais positivos.

Na febre amarella, MARCHOUX, SALIMBENI e SIMOND verificaram que o sôro dos convalescentes é dotado de propriedades preventivas muito nitidas e talvez mesmo de algum poder therapeutico.

Na escarlatina EMIL REISS, além de outros, obteve bons resultados com sôro de convalescentes, injectando, antes do 4º dia de molestia, 100 cm.^{3} na veia e isso mesmo em casos graves.

b) *A pseudo-superimmunisação, isto é, a colheita do sôro em individuos ainda doentes.* Os portadores de virus ou melhor os eliminadores *(virus ausscheider)* parece que são sempre doentes, ainda que de manifestações chronicas insignificantes. Este facto, que tem sido verificado de varios lados na peste bovina, é facil de ser observado no epitelioma das aves. Uma gallinha apparentemente restabelecida, nutrindo-se bem, effectuando posturas, é considerada como inteiramente restabelecida; entretanto, si attentarmos bem, notaremos que, de quando em quando, ella sacode bruscamente a cabeça. Essa gallinha soffre de um ligeiro corysa chronico, e quer o liquido, quer o sangue são infectantes. Nessas condições pensa-se em uma *immunitas non sterilisans,* porque se obtem um sôro infectante.

Com o fim de verificar as falhas apontadas, foram emprehendidos no Posto varios trabalhos. Os resultados obtidos com o epithelioma ou diphteria das aves, de mais facil experimentação, podem já ser publicados.

———

Quando se lida com um grande numero de pintos e gallinhas inoculados com epithelioma, não se pode ter duvidas sobre a identidade desta molestia com a diphteria das aves. Não só todos os pintos no periodo que precede a morte apresentam symptomas mais ou menos accentuados de diphteria, como tambem é frequente o apparecimento de placas diphtericas no decurso da bouba; além disso, não é de todo raro o apparecimento de casos em que as inoculações provocam exclusivamente diphteria. Nas gallinhas as inoculações de fortes dóses de epithelioma, feitas sob a pelle ou no peritoneo, provocam, de regra, diphteria.

Além dessa prova por inoculação, que já foi anteriormente estudada principalmente por S. VON RATZ e por UHLENHUT e MANTEUFEL (1910), as provas serologicas, que publicarei mais tarde, são confirmadoras dessa affirmação, embora MANTEUFEL inoculando 5 cm$_3$. de sôros de aves immunes não verificasse propriedades therapeuticas, o que não é de extranhar.

O preparo do sôro antiepitheliomatoso está sendo feito actualmente só com material de epithelioma triturado em gral de pedra, coado em panno e finalmente filtrado em papel, technica semelhante á que já usamos no preparo do sôro antiaphtoso e outros ainda em estudos. Evitei, nesse caso, contrariamente ao que fazemos na febre aphtosa, a via intravenosa, embora a considere a melhor via para superimmunisações, porque no caso das gallinhas a sua difficuldade tira-lhe o valor pratico; preferi por isso as inoculações intraperitoneaes.

Para fugir aos eliminadores de virus, resolvi tomar sempre grandes lotes de

gallos ou gallinhas, não muito novos, e fazer nelles uma primeira inoculação de prova. Apezar de se tratar de aves que pela idade já tiveram probabilidade de se infectar anteriormente, sou constantemente forçado a eliminar cerca de 50%, porque alguns adquirem diphteria franca e outros manifestam a corysa chronico a que me referi.

As aves, que durante uma semana de observação cuidadosa não apresentam signaes de molestia, a não ser uma ligeira diarrhéa verde, são separadas para a superimmunisação. Esta é feita de accordo com a technica geral que adoptamos na pratica corrente para o preparo do sôro contra os filtraveis, com as modificações de dose e via de inoculação necessarias no caso a saber:

1ª. (Inoculação de prova) Inj. hypodermica de 0,1 gr. de bouba triturada e diluida em sol. physiologica, filtrada em panno e papel.

2ª. Inoculação, no peritoneo, de 0,5 gr. de boubas convenientemente trituradas, diluidas e filtradas.

3ª. Inoculação intraperitoneal de 1 gr. do material referido.

4ª. Inoculação intraperitoneal de 2 gr. do material referido.

5ª. Inoculação intraperitoneal de 4 gr. do material referido.

As aves superimmunisadas são sacrificadas no decimo dia depois da 5ª. inoculação. O sôro obtido deve ser empregado no mesmo dia, porque a conservação com acido phenico provoca convulsões nos pintos novos, ás vezes mortaes e produz uma grande irritação no ponto de inoculação. O ajudante-chimico do Posto, BAETA VIANNA, pretende corrigir esse defeito, substituindo essa substancia conservadora e alem disso effectuando a concentração pela reducção do volume do sôro.

Os pintos escolhidos devem ser muito novos, para evitar os animaes que já se immunisaram por ataque anterior.

Os pintos de idade superior a tres mezes já resistem melhor á infecção, e mais ainda os frangos e aves adultas; estas curam-se sem tratamento.

Depois de varias tentativas cheguei a verificar que a dóse de 2,5 cm³., já protege quando inoculada previamente e ás vezes, ainda, quando injectada pouco depois do virus

Seguem-se alguns resumos das experiencias mais recentes.

I Serie

Pintos de um mez inoculados com 2,5 cm³. de sôro antiepitheliomatoso.

1 — Inj. 5' depois do virus (esfregado na cabeça) Nada soffreu
2 — « 10' « « « « « « ..... † (morte)
3 — « 15' « « « « « « ..... †
4 — « 20' « « « « « « ..... †
5 — « 25' « « « « « « ..... †
6 — Inoculado somente com bouba ..... †

Só o pinto injectado 5 minutos depois do virus nada soffreu, todos os outros morreram dentro de 33 dias. Os pintos 4 e 5 tiveram boubas enormes, os outros boubas menores.

II Serie

Pintos de um mez inoculados com 3 cm³. de sôro antiepitheliomatoso e extracto de baço.

7 — Inj. 15' antes do virus (esfregado na cabeça)..... Nada
8 — Idem ..... Nada

9 – Inj. 15' depois do virus ..... Nada
10 – Idem ..... †
11 – Inj. 1 h. depois do virns ..... †
12 – Idem ..... †
13 – Inj. de extr. de baço 1 h. depois ..... †
14 – Idem ..... †
15 – Inoculado somente com virus ..... †
16 – Idem ..... †

Os pintos que soffreram a injecção de sôro antes da inoculação do virus (por attrito na cabeça) não se infectaram, já a injecção feita 1/4 de fora depois do virus, só protegeu um dos dois inoculados, dahi por deante o efeito protector foi nullo. Os pontos 11 e 14 só apresentaram placas diphtericas, os outros boubas.

III Serie

Pintos de cerca de dois mezes inoculados com 2,4 e 6 cm³. de sôro antiepitheliomatoso ou de sôro normal.

17 – Inj. 2 h. antes (2 cm³) e 1 h. antes (mais 2 cm³) ..... Nada
18 – Idem ..... Nada
19 – Idem com soro de gallinha normal ..... Bouba
20 – Idem idem ..... Bouba
21 – Inoc. somente com virus (esfregado na cabeça) ..... Bouba

Nesta experiencia ainda o sôro se mostrou de valor preventivo absoluto.

IV Serie

Pintos de pouco mais de dois mezes inoculados com 2,4 e 6 cm_3 de sôro anti ou de s. normal.

Injecções preventivas (sôro anti)

22 – Inj. 2 cm³ 24 h. antes do virus (inj. hypod.) ..... Bouba
23 – Idem ..... Nada
24 – Inj. 2 cm³ 24 h. e 21 h. antes do virus ..... Nada
25 – Idem ..... total 4 cm³ Nada
26 – Idem ..... Nada
27 – Idem ..... Nada
28 – Inj. 2 cm³ 24 h. 21 h. e 18 h. antes do virus ..... Nada
29 – Idem ..... total 6 cm³ Nada
30 – Idem ..... Nada
31 – Idem ..... Nada

Injecções preventivas (sôro normal)

32 – Inj. 2 cm³ sôro norm. 24 h. antes do virus ..... Bouba †
33 – Inj. 2 cm³ 24 h. e 2 cm³ 21 h. antes do virus ..... total 4 cm³ Bouba
34 – Idem ..... Bouba
35 – Inj. 2 cm³ 24 h. 21 h. e 18 h. antes do virus ..... total 6 cm³ Bouba
36 – Idem ..... Bouba

Injecções curativas (sôro anti)

37 – Inj. 2 cm³ logo depois da inj. hypod. de virus		Nodulos
38 – Idem		Bouba
39 – Inj. 2 cm³ mais 2 cm³ depois da inj. de virus		Nodulos
40 – Idem	total 4 cm³	Nodulos
41 – Idem		Nodulos
42 – Idem		Nodulos
43 – Inj. 2 cm³ mais 2 depois da inj. virus		Nodulos
44 – Idem	total 6 cm³	Nodulos
45 – Idem		Nodulos
46 – Idem		Nodulos

Injecções curativas (sôro normal)

47 – Inj. de 2 cm³ logo depois da inj. de virus		Bouba
48 – Inj. 2 cm³ mais 2 depois da inj. virus	total 4 cm³	Bouba †
49 – Idem		Bouba †
50 – Inj. 2 cm³ mais 2 e mais 2 depois do virus	total 6 cm³	Bouba (sacrif.
51 – Idem		Bouba †

Testemunhas

52 – Inoculado sómente com virus	Bouba †
53 – Idem	Bouba
54 – Idem	Bouba
55 – Idem	Bouba
56 – Idem	Bouba

Os pintos não supportam injecções de mais de 2 a 3 cm³. por isso nesta serie as injecções de 4 e 6 cm³. foram feitas em duas e tres vezes com intervallos approximados de tres horas.

Os nodulos que se observam no abdomen (ponto de injecção do sôro) dos pintos de numeros 38 a 46 parecem devidos ao acido phenico necessario á conservação do sôro, isso não se observou nos de numeros inferiores, que foram injectados com sôro fresco, nem nas testemunhas de sôro normal, tambem fresco.

Aqui, mais uma vez, o valor preventivo do sôro foi completo, quando a dóse de sôro era de 4 a 6 cm³.

Podemos portanto concluir que é facil a obtenção de sôro contra o epithelioma das aves, desde que:

1º as aves em superimmunisação supportem as inoculações sem manifestações morbidas, ainda que ligeiras (coryza chronico, por exemplo).

2º que se verifique o poder do sôro immunisante com dóses elevadas em relação ao peso do animal que se pretende proteger contra a infecção.

———

A simples passagem do material virulento atravez de panno e papel de filtro poderá parecer, á primeira vista, que prejudica a experimentação, mas não pretendi, de forma alguma, demonstrar a filtrabilidade do germe da diphteria das aves, isso já está brilhantemente feito por grandes pesquisadores; o meu intuito foi mostrar que as gallinhas superimmunisadas com material virulento fornecem sôro contra uma molestia de germe filtravel que parecia fugir ao principio

geral: *Os germes filtraveis produzem, de regra, sôro preventivo, quando inoculados de modo conveniente nos animaes sensiveis á molestia de que são causa.*

Bello Horizonte, 21—Maio—1922

Contribuição ao estudo das Gregarinas (1)

por

CESAR PINTO, D. M.

(Com as estampas 1—6).

Introdução.

O presente trabalho representa o resultado de pesquizas que encetámos em Setembro de 1917, sob a orientação dos DRS. OLYMPIO DA FONSECA FILHO e ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, Assistentes do Instituto Oswaldo Cruz.

Em doze Notas-prévias que publicamos no BRASIL-MEDICO durante o ano de 1918, descrevemos 16 especies novas de gregarinas além de termos estabelecido dois generos novos. Num deles incluimos uma especie dentre as novas fórmas que descrevemos, estabelecendo outro para uma gregarina já anteriormente conhecida. Das gregarinas conhecidas damos a redescrição de duas delas por havermos observado alguns detalhes não referidos pelos autores que as descreveram.

Os artrópodes por nós examinados atingiram o numero de 471, todos eles colhidos no Rio de Janeiro (Léme e Manguinhos), em diferentes epocas do ano. Dos miriapodes colhidos e examinados pelo DR. OLYMPIO DA FONSECA FILHO quando em viagem scientifica pelo rio PARANA' (Estado de São Paulo), verificámos sómente duas especies de gregarinas já conhecidas: STENOPHORA JULI e STENOPHORA COCKERELLAE.

Só conseguimos verificar o ciclo evolutivo de uma gregarina depois de dez mezes de pesquisas, pois os esporos destes protozoarios eram sempre rarissimos, embora tivessemos examinado artrópodes em todas as estações do ano. O unico animal que apresentou grande numero de esporos foi um oligoqueto (GLOSSOSCOLEX WIENGREENI) apanhado pelo DR. O. DA FONSECA FILHO nos arredores do Rio de Janeiro (GAVEA); aproveitando então o grande numero de esporos do MONOCYSTIS PERFORANS Pinto, 1918 existente no tecido parasitado (testiculo) cavidade geral e nas fezes,

(1) Trabalho laureado pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro com o premio "Gunning" de Historia Natural (1919).

resolvemos observar a formação dos esporozoitos *in vitro*, o que conseguimos com relativa facilidade.

Historico brasileiro.

Sobre o assunto presente só conhecemos um trabalho brasileiro, do Professor DR. PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES, publicado nos «Archives de Parasitologie» de Paris, em 1900. Actualmente o Professor DR. GUSTAVO HASSELMANN, da Escola de Agricultura, publicou em o BRASIL-MEDICO cinco notas-previas sobre esporozoarios e descreveu algumas especies novas de gregarinas além de ter estudado muito bem o ciclo evolutivo destes protozoarios.

Tecnica.

OBTENÇÃO DE MATERIAL PARA ESTUDOS. — Entre os invertebrados que mais frequentemente são parasitados pelas gregarinas, estão os artrópodes, anelideos, moluscos, equinodermes etc. Dos artrópodes, o mais facil de obtenção é a barata *STYLOPYGA AMERICANA* que entre nós é parasitada pelas seguintes especies: *GREGARINA BLATTARUM* von Siebold, *PROTOMAGALHAENSIA SERPENTULA* (MAGALHÃES, 1900) e *GREGARINA LEGERI* Pinto, 1918.

Uma vez morto o artrópode, molusco etc. pelo cloroformio ou eter retira-se o intestino que deve ser aberto longitudinalmente por meio de uma pequena tezoura que possua as extremidades bem ponteagudas. Feito isto, podemos muitas vezes observar a olho nú, pequenos bastonetes de côr branca; com uma pipeta aspira-se o conteudo intestinal juntamente com os pequenos bastonetes brancos e examina-se ao microscopio com pequeno aumento (Obj. A. ZEISS). Verificada a presença de gregarinas no intestino do animal morto, faz-se a fixação do orgão parasitado para ulteriormente incluí-lo em parafina afim de praticarem-se córtes histologicos. Nestes córtes então,. iremos procurar as fórmas endocelulares das gregarinas.

Preparados.

Os preparados pódem ser a fresco ou corados. Os preparados corados fizemo-los pelo metodo de HEIDENHAIN, hematoxilina de DELAFILD ou hematoxilina de HANSEN. Os cótes de intestino contendo fórmas endocelulares foram igualmente coloridos pelo metodo de HEIDENHAIN que sempre deu bons resultados.

Para os estudos de sistematica será melhor desenhar o protozoario quando vivo, pois com a fixação e coloração muitas vezes as gregarinas se fragmentam devido as dimensões exageradas que elas apresentam.

Estudo dos generos e especies brasileiras.

Durante nossas pesquisas sobre esporozoarios do Brasil verificámos a existencia de seis generos de gregarinas, sendo que dois deles foram por nós estabelecidos. No estudo sistematico de algumas especies, encontrámos certas dificuldades para coloca-las em generos já conhecidos, e como não possuisemos base scientifica para crear novos generos colocámos provisoriamente algumas especies no genero *GREGARINA*, DUFOUR até que estudos posteriores elucidem melhor a classificação daquelas especies.

Gregarinas policistides (Cefalinas).

I. Fam. *STENOPHORIDAE* (LÉGER et DUBOSCQ, 1904.) PINTO, 1918.

a) Genero *STENOPHORA* LABBE'. 1899.

b) Genero *FONSECAIA* PINTO, 1918.

II. Fam. *GREGARINIDAE* LABBE', 1899.

a) Genero *GREGARINA* DUFOUR, 1828.

b) Genero *PROTOMAGALHAENSIA* PINTO, 1918.

III. Fam. *ACTINOCEPHALIDAE* LÉGER, 1892.

a) Genero *BOTHRIOPSIS* SCHNEIDER, 1875.

Gregarinas monocistides (Acefalinas).

I. Fam. *MONOCYSTIDAE* BUTSCHLI, 1822.

a) Genero *MONOCYSTIS* STEIN, 1848

Genero Fonsecaia PINTO, 1918.

Diagnose do genero.—Gregarina policistide com desenvolvimento intra celular, não formando sizigia. Esporocistos lisos em fórma de elipse alongada sem linha equatorial, não reunidos em cadeia e desprovidos de endo-esporocisto. Epimerito muito redusido e desprovido de endoplasma. Gregarina parasita de diplópode. Cistos, desconhecidos.

Este genero é incluido na familia das *STENOPRORIDAE* LEGER et DUBOSCQ, 1904, cuja diagnose modificámos, nela incluindo especies com esporocistos desprovidos de linha equatorial e sem endo-esporocisto.

Especie typo do genero: Fonsecaia polymorpha PINTO, 1918.

(Est. 1 Figs. 1—17).

Dimensões dos exemplares.—Fórma redonda (Figs. 2 e 3). Comprimento total 30 micra; comprimento do protomerito 8 micra; largura do mesmo 11 micra; idem do deutomerito 24 micra.

Fórma intermediaria (Figs. 4 — 9). Comprimento total 100 micra; idem do protomerito 10 micra; largura do mesmo 14 micra; idem do deutomerito 48 micra.

Esporonte (Fig. 17). Comprimento total 170 micra; idem do protomerito 15 micra; largura do mesmo 18 micra; idem do deutomerito 80 micra. Nucleo com 10 micra; cariosoma com 3 micra.

Dimensões do espóro. — (Fig. 1). Comprimento 18 micra por 8 micra de largura. Relações entre as dimensões do esporonte (Fig. 17); relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total da gregarina 1:11,3. Relação entre a largura do protomerito e a do deutomerito 1:4,4. Relação entre a largura do protomerito para o comprimento do mesmo 1:1,2.

Descrição.—A *Fonsecaia polymorpha* se apresenta sob duas fórmas distinctas, entre as quais existem tipos intermediarios. São elas: fórma redonda (Figs. 2 e 3) aparentemente desprovida de epimerito, e fórma longa (Figs. 4—17) com epimerito quasi constante, mas algumas vezes rudimentar.

Fórma redonda.— (Figs. 2 e 3). Gregarina com 30 micra de diametro apresentando um protomerito hemisferico com 8 micra de comprimento por 11 micra de largura. Deutomerito quasi sempre completamente esferico com epicito bastante desenvolvido; mede o deutomerito cerca de 24 micra de diametro. O septo é plano.

Fórma longa. — (Figs. 4—17). Epimerito rudimentar em alguns exemplares e, além disso, faltando algumas vezes; esta parte da gregarina é sempre desprovida de endoplasma. O protomerito tem a fórma de cilindro achatado ou, ainda, pirifórme. O septo é ás vezes invisivel. Deutomerito de morfologia bastante variavel nas fórmas longas do parasito. Em alguns exemplares é cilindrico, podendo terminar numa ponta que é sempre romba. Em outros exemplares á parte media do deutomerito corresponde uma dilatação que se vae atenuando para as duas extremidades; essa dilatação algumas vezes em lugar de se localisar na parte média do deutomerito, se desloca em direção a uma das extremidades, ficando nesses casos uma das porções estreitadas mais alongada que a

outra, de modo a simular o parasito um vaso provido de gargalo (Est. 1 Fig. 12).

Além dessas variações individuais da fórma do deutomerito, póde um mesmo exemplar de gregarina, em virtude de uma contração anular dos mionemas, apresentar uma especie de cintura que se desloca ora num, ora noutro sentido (Est. 1 Fig. 7). Nos esporontes que observámos, o deutomerito se apresentava com fórma ovoide (Est. 1 Fig. 17). Vimos um esporonte com essa fórma que gradativamente foi se contraindo até tomar a fórma de uma pera (Est. 1 Fig. 11) deixando ver na base, o protomerito de tamanho muito reduzido.

Epicito bastante espesso em quazi todos os exemplares. Fibrilas de mionema ora invisiveis nas partes anterior e média do deutomerito, em toda a extensão dele. Endocito de coloração castanha ou amarelada, provido de granulações sempre mais condensadas no deutomerito. Em um exemplar notámos nitido afastamento dessas granulações da parte média do deutomerito, na qual se formava uma zona equatorial em que eram apenas visiveis as fibrilas de mionema (Est. 1 Fig. 17). As granulações do deutomerito podem se aglomerar na parte central dele, deixando assim um espaço hialino nas imediações do epicito (Est. 1 Fig. 9 A).

Nucleo. Esta parte do protozoario tambem aparece sob diversos aspétos. Em algumas gregarinas o nucleo é invisivel a fresco. Em outras se póde apresentar redondo, mostrando ou não, cariosoma esferico e de tamanho variavel, visivel a fresco. O nucleo é as vezes alongado, em fórma de rosacea (Est. 1 Fig. 13) ou de pera (Est. 1 Fig. 14).

Movimentos.—Nas fórmas redondas e nos esporontes não observámos movimentos; não se dando o mesmo nas gregarinas de tamanho médio, onde notámos movimentos ora lentos, ora exagerados. A gregarina se move sempre em direção paralela ao seu eixo longitudinal, fazendo geralmente um pequeno percurso para diante e lógo em seguida outro para traz. Nas fórmas de tamanho médio e que possuem mionemas, notámos que a gregarina se dobrava ao meio e se deslocava para um e outro lado. Tais movimentos nunca observámos nos esporontes que eram quasi imoveis.

Cistos.—Não conseguimos observa-los apezar de termos examinado grande numero de diplópodes.

Esporocistos.—Já descritos.

Procedencia do hospedador: Hospital Central do Exercito. Jockey-Club. Rio.

Epoca: Abril de 1918.

Hospedador: *ORTHOMORPHA GRACILIS* C. Koch, 1847.

Habitat: intestino.

Stenophora cunhai PINTO, 1918.

(Est. 6 Figs. 87 e 88).

Dimensões da gregarina: comprimento total 250 micra; idem do protomerito 50 micra; largura do mesmo 40 micra; idem do deutomerito 30 micra.

Nucleo com 20 micra e cariosoma 10 micra.

Relações entre essas dimensões: relação entre o comprimento do protomerito para o comprimento do mesmo 1:1,2.

Protomerito apresentando uma parte anterior globulosa seguida de um estreitamento anular. Para traz desse estreitamento existe uma nova porção dilatada seguida de novo estreitamento que corresponde ao septo que o separa do deutomerito. Na parte anterior do protomerito existe uma serie de denticulações.

Deutomerito cilindro-curvo, apresentando na parte anterior uma dilatação semelhante á que se encontra na parte posterior do protomerito. Epicito de espessura unifórme. Fibrilas de mionema muito desenvolvidas, formando uma estriação longitudinal facilmente visivel. Endocito claro, hialino com poucas granulações nas extremidades anterior e posterior.

Nucleo redondo apresentando um

grande cariosomo central e tendo na superficie uma massa de cromatina com a fórma semi-lunar.

Hospedador: *RHINOCRICUS PUGIO* Brölemann, 1902. (Gongolo).

Habitat: intestino.

Procedencia do hospedador: Rio de Janeiro (Léme).

Epoca: novembro de 1917.

Stenophora lutzi PINTO, 1918.

(Ests. 2, 5 e 6 Figs. 32—36, 82—85)

Dimensões do protozoario.—Observámos exemplares livres na cavidade intestinal do hospedador que mediam desde 15 micra até 210 micra. Comprimento total do esporonte 210 micra; idem do protomerito, 28 micra; largura do protomerito na parte posterior 28 micra; idem do deutomerito 35 micra; comprimento do epimerito 5 micra; largura do mesmo 8 micra.

Relações entre tais dimensões.—Relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total da gregarina 1:7,5. Relação entre a largura do deutomerito e a do protomerito 1:1,2. Relação entre a largura do protomerito e o comprimento do mesmo 1:1.

Epimerito hemisferico, constante nas fórmas intermediarias e ausente na mór parte dos esporontes.

Protomerito cilindrico, possuindo sempre uma cintura na parte média; ás vezes nota-se na parte anterior um vestigio do epimerito que se destacou.

Deutomerito cilindrico, terminando em ponta romba. Epicito flexivel e de espessura uniforme. Endocito de côr parda, granuloso no protomerito e no deutomerito; aqui ás vezes ele é mais escuro na parte anterior.

Nucleo redondo, quasi sempre colocado na parte posterior do protista, possuindo um cariosoma redondo e central. Esporos e cistos desconhecidos.

Diagnose diferencial. A presente gregarina assemelha-se á *STENOPHORA DAUPHINIA* WATSON, dela se distinguindo por não possuir póro e papilas na parte anterior do protomerito. WATSON não se refere á existencia do epimerito na gregarina ácima citada, o que se observa em exemplares de *STENOPHORA LUTZI*.

Hospedador: *Rhinocricus* (sp.).

Habitat: intestino.

Procedencia: Rio de Janeiro (Léme).

Epoca: Novembro de 1917.

Stenophora cruzi PINTO, 1918.

(Est. 6 Figs. 89.)

Comprimento total da gregarina 400 micra; idem do protomerito 30 micra; largura do protomerito 40 micra; do deutomerito 80 micra. Nucleo com 10 micra.

Relações entre essas dimensões: relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total 1:13; relação entre a largura do deutomerito para o comprimento do mesmo 1:1,3.

Protomerito com a fórma de cone truncado. Deutomerito cilindrico em a parte anterior estreitando-se na parte posterior para terminar em ponta romba. Esta gregarina apresenta sempre o deutomerito recurvado, Epicito de espessura uniforme deixando transparecer nitidas fibrilas de mionema. Em alguns pontos existem dobras de tamanho variavel, dando assim a impressão de sulcos. Endocito claro hialino, cheio de pequenas granulações. Nos lados e na extremidade posterior o endocito apresenta-se com a fórma vacuolar bastante pronunciada. No protomerito existem granulações, não havendo entretanto fibrilas de mionema. Nucleo pequeno e redondo.

Habitat: intestino de *Rhinocricus* (sp.).

Procedencia: Rio de Janeiro. (Léme).

Epoca: Dezembro de 1917.

Stenophora viannai PINTO, 1918.

(Est. 6 Figs. 90—92.)

Comprimento total do portista 900 micra a 1.000 micra; idem do protomerito 60 micra; largura do protomerito 70 mi-

cra; idem do deutomerito 150 micra; epimerito 10 micra por 30 micra. Nucleo 30 micra.

Relações entre tais dimensões: relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total 1:16,6; relação entre a largura do deutomerito e a do protomerito 1:2,1; relação entre a largura do protomerito para o comprimento do mesmo 1:1,1.

Epimerito. Na parte anterior do protomerito existe o epimerito que tem a fórma de uma saliencia mais ou menos cilindrica com um póro central. Protomerito heisferico com septo bastante nitido. Deutomerito cilindrico terminando em ponta romba. Esta gregarina tem um polimorfismo bastante pronunciado. Em alguns exemplares o deutomerito afina-se no terço superior; não se dando o mesmo com o protomerito que conserva quasi sempre a mesma morfologia. Nucleo. Esta parte do protista chama lógo a atenção do observador quer pela sua morfologia quer pela situação. Ele é sempre de fórma alongada, colocado transversalmente na maior parte das vezes junto ou nas imediações do deutomerito. Epicito de espessura variavel. Nos bordos do septo é de espessura bastante pronunciada e mais ainda nos bordos do póro do epimerito. Endocito granuloso, de côr parda no deutomerito e sempre claro no protomerito.

Hospedador: *Rhinocricus* (sp.).
Habitat: intestino.
Procedencia: Rio de Janeiro (Léme).
Epoca: Fevereiro de 1918.

Stenophora polydesmi (LANKESTER, 1863) WATSON, 1916.

(Est. 3 Fig. 49).

Sinonimia:

Gregarina polydesmi virginiensis LEIDY, 1853.
Gregarina polydesmi LANKASTER, 1863.
Amphoroides polydesmi LABBE', 1889.
Gregarina polydesmivirginiensis CRAWLEY, 1903.
Amphoroides polydesmivirginiensis ELLIS, 1913.

WATSON redescreveu esta especie de *Stenophora* em 1916 e dá para os esporontes 400-900 micra de comprimento. Dimensões dadas por nós: comprimento total 370 micra; largura do deutomerito 40 micra; idem do protomerito 30 micra; comprimento do mesmo 40 micra. Nucleo com 10 micra de diametro.

Nas estampas dadas por WATSON não se vem bem certos detalhes sobre a constituição desta gregarina, por isso resolvemos dar uma figura desenhada *ad naturalis*.

A *Stenophora polydesmi* (Lank.) WAT., possue um epimerito disposto em fórma de calote, sem constituição granulosa. O protomerito é granuloso e possue mionemas dirigidos no sentido longitudinal do protozoario, sendo de notar que nesta parte do protista não vimos nunca mionemas transversais. O septo é claro e um pouco concavo, estando a concavidade voltada para a extremidade anterior. O deutomerito que é bastante longo, possue granulações de côr parda em toda a sua extensão. Tambem no deutomerito existem mionemas que se dirigem no sentido longitudinal. O epicito desta *Stenophora* possue nitidos mionemas que se dirigem no sentido transversal. Estas formações, porém, são vistas sómente na periferia do protista.

Hospedador: *Rhinocricus* (sp.)
Habitat: intestino.
Procedencia: Rio de Janeiro. (Léme).
Epoca: Novembro de 1917.

Stenophora umbilicata PINTO, 1918.

(Est. 5 Figs. 79 e 80).

Comprimento total do esporonte, 320 micra; comprimento do protomerito, 25 micra; largura do deutomerito, 150 micra; idem do protomerito, 40 micra; nucleo com 40 micra, cariosoma com 10 micra.

Epimerito rudimentar. Protomerito

muito pequeno e fortemente achatado. Deutomerito muitissimo largo em relação ao protomerito, de contorno eliptico.

O conjunto formado pelo epimerito e protomerito, fortemente achatados, dá á estremidade anterior da gregarina um aspéto umbilicado. Epicito não diferenciado em alguns esporontes, em outros ele se esboça na parte anterior do deutomerito. Nucleo muito grande, de fórma arredondada, possuindo no interior um grande cariosoma esferico e centralmente colocado.

Hospedador: *Rhinocricus* (sp.)
Habitat: intestino.
Procedencia: Rio de Janeiro. (Léme).
Epoca: Dezembro de 1917.

Stenophora tenuicollis PINTO, 1918.

(Est. 5 Fig. 81.)

Comprimento total do esporonte, 400 micra; idem do protomerito, 20 micra; largura do mesmo, 20 micra; idem do deutomerito na parte mais dilatada, 50 micra; idem na parte mais estreita, 18 micra. Nucleo com 10 micra de diametro. Protomerito em fórma de cone. Deutomerito recurvado e apresentando diametro variavel em toda a sua extensão. Na extremidade anterior ele apresenta uma forte dilatação que dá á esta parte do corpo a fórma de um balão; para traz o deutomerito se continua por uma parte estreitada que se vae gradualmente alongando até a extremidade posterior dilatada em fórma de clava. Entre as duas extremidades dilatadas do deutomerito, a parte estreitada tem um aspéto de gargalo fino e alongado. O endocito é claro no protomerito e no deutomerito. Esta gregarina possue mionemas altamente desenvolvidos no protomerito e na parte média do deutomerito.

Hospedador: *Rhinocricus* (sp.)
Habitat: intestino.
Epoca: Setembro de 1917.
Procedencia: Manguinhos. Rio de Janeiro.

Genero Protomagalhaensia PINTO, 1918.

Diagnose do genero: espóros em fórma de barril com um espinho em cada angulo. Evolução das gregarinas sempre intra-celular. Cistos desconhecidos. Fórmas em evolução sempre alongadas. Sizigia: protomerito do satelite comprimindo á maneira de uma tenaz o deutomerito do primito. Epimerito desconhecido. Este genero é incluido na familia *Gregarinidae* LABBE', 1889.

Apresentamos um quadro demonstrativo dos caracteres diferenciais entre o presente genero e o genero *Gregarina* DUFOUR, 1828.

Genero *Gregarina* DUFOUR, 1828.
Espóro: em fórma de barril ou cilindrico.
Evolução: intra-celular.
Cistos: com espóro-ductos.
Fórmas em evolução: alongadas e arredondadas.
Epimerito: globular ou cilindrico.
Sizigia: protomerito do satelite simplesmente aderente ao deutomerito do primito.

Genero *Protomagalhaensia* PINTO, 1918.
Espóro: em fórma de barril com um espinho em cada angulo.
Evolução intra-celular.
Cistos: desconhecidos.
Fórmas em evolução: sempre alongadas.
Epimerito: desconhecido.
Sizigia: protomerito do satelite comprimindo á maneira de uma tenaz o deutomerito do primito.

Especie tipo do geneo: Protomagalhaensi serpentula (MAGALHÃES, 1900) PINTO, 1918.

(Ests. 3 e 6 Figrs. 48 e 93)

Sinonimia:
Gregarina serpentula MAGALHÃES, 1900.

Dimensões dadas pelo Professor MAGALHÃES: exemplares de 1,2mm de comprimento por 0,18mm de largura, ordinariamente medem eles 0,77mm a 0,80 mm de comprimento por 0,06mm de largura.

O protomerito tem 50 micra de comprimento.

A *Protomagalhaensia serpentula* (MAGALHÃES, 1900) apresenta sempre a fórma cilindrica e bastante alongada possuindo mionemas muito nitidos em quasi todos os exemplares por nos examinados; tais formações são vistas no protomerito e no deutomerito do protista, dirigindo-se elas no sentido longitudinal da gregarina. Não observámos nunca mionemas transversais no epicito desta gregarina.

Em alguns exemplares notámos uma pequena mancha parda e de fórma oval, localisada no protomerito dos esporontes. Tambem no protomerito deste protista observa-se em sua parte média uma pequena cintura motivada pelos movimentos que a parte anterior do protomerito efétua para um lado e outro do animal. As sizigias podem ser em Y ou forquilha; sendo de notar que neste estado, os satelites tem modo diverso de se prenderem ao primito. O satelite verdadeiro prende-se ao primito comprimindo-o em sua parte posterior á maneira de uma tenaz (Fig. 48); o falso satelite tem modo de apreensão diferente do primeiro, isto é, prende-se ao primito como o satelite da *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918.

Hospedador: *Stylopyga americana* (a barata).

Habitat: intestino.

Procedencia: Rio (Léme).

Gregarina magalhãesi PINTO, 1918.

(Ests. 1 e 2 Figs. 18–29.)

Dimensões da fórma joven do protista: comprimento total 80 micra; comprimento do protomerito 20 micra; largura do mesmo 20 micra; idem do deutomerito 25 micra; comprimento do epimerito 10 micra; largura do mesmo 8 micra. Nucleo 10 micra. Dimensões do esporonte: comprimento total 300 micra; idem do protomerito 65 micra; largura do mesmo 60 micra; idem do deutomerito 70 micra.

Epimerito. (Figrs. 18-22 e 24). Esta parte da *Gregarina magalhaesi* é bastante movel, dando lugar assim a diversas fórmas de epimerito. Quando em repouso, ele tem a fórma de um cone. (Fig. 19) e é sempre desprovido de granulações.

Protomerito apresentando um pleomorfismo bastante notavel; nas fórmas jovens do protozoario (Fig. 24) ele possue a fórma cilindro-conica, outras vezes o protomerito se nos apresenta achatado no sentido antero posterior (Fig. 23); em alguns exemplares observámos protomeritos tambem achatados e com saliencias e reintrancias, ora na parte anterior (Fig. 25) ora nos bordos (Fig. 26). Esta mudança de fórma do protomerito é devida a movimentos efetuados pela gregarina, deslocando-se o protomerito para um lado e outro. Septo plano ou recurvado ligeiramente, podendo tambem deixar de ser visto algumas vezes.

Deutomerito cilindrico, terminando em ponta romba nas gregarinas jovens; nas fórmas intermediarias (Fig. 29) o deutomerito apresenta mais ou menos a fórma de um S. Quando a gregarina se desloca para a frente, o deutomerito vae se dobrando aos poucos e toma então a fórma de um S. achatado.

Epicito podendo ser invisivel em alguns exemplares (Fig. 26 e 28), outras vezes ele é espesso e fórma dobras em grande numero e de tamanho variaveis, no deutomerito (Fig. 29). Algumas vezes o epicito penetra em dois terços do deutomerito, dando deste modo a impressão de sulcos (Fig. 29). Endocito claro com granulações no protomerito; no deutomerito ele é bastante escuro, apresentando tambem numerosas granulações. Nucleo

de tamanho variavel e de morfologia diversa.

Cistos ovoides.

Hospedador: *Scolopendra* (sp.)

Habitat: intestino.

Procedencia: Rio de Janeiro.

Epoca: Novembro de 1917.

Ao nosso colega Sr. ALVIM TEIXEIRA DE AGUIAR, e ARTHUR PAULO DE SOUZA MARTINS que nos forneceram o material para o estudo deste protista, sinceros agradecimentos.

Gregarina brasiliensis PINTO, 1918.

(Est. 2 Figs. 30 e 31).

Comprimento total do protozoario 92 micra; idem do protomerito 38 micra; largura do mesmo 30 micra; idem do deutomerito 35 micra; comprimento do nucleo 20 micra; largura do mesmo 10 micra. cariosoma 4 micra.

Relações entre tais dimensões: relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total da gregarina 1:2,4; relação entre a largura do deutomerito e a do protomerito 1:1,1; relação entre a largura do protomerito e o comprimento do mesmo 1:1,2.

Protomerito ovo-cilindrico, geralmente incurvado, a máior parte das vezes obliquamente implantado na extremidade anterior do deutomerito (Fig. 31). Deutomerito piriforme. Epicito de espessura bastante pronunciada quer no protomerito quer no deutomerito. Endocito de constituição granulosa tanto no protomerito como no deutomerito. Cistos e esporos não observámos. Nucleo, oval com cariosoma de morfologia diversa. No nucleo observam-se granulações de cromatina de varios tamanhos e irregularmente dispostas.

Movimento. Quando se observa esta gregarina, nota-se lógo um movimento bastante pronunciado. O deslocar do protista se faz sempre em um só sentido, isto é, para frente.

Diagnostico diferencial. Esta gregarina assemelha-se com a *Gregarina grisea* ELLIS, e com a *Actinocephalus stelliformis* AIME' SCHNEIDER. Da primeira se distingue por possuir nitida constricção do septo e não formar sizigia, e tambem pela disposição da extremidade posterior do protomerito.

Da *Actinocephalus stelliformis* A. Sch., se diferencia por possuir esta gregarina um epimerito que se conserva por muito tempo, e, ainda pela disposição do septo que na referida gregarina é sempre plano.

A *Gregarina brasiliensis* conserva sempre a mesma fórma do deutomerito. o que não se observa na *Actinocephalus stelliformis* A. Sch., que pela disposição do deutomerito apresenta tres variedades: piriforme, longa e sub-esferica.

Hospedador: *Scolopendra* (sp.)

Habitat: intestino.

Procedencia: Rio de Janeiro.

Epoca: Outubro de 1917.

Ao Dr. SEVERINO LESSA, que gentilmente nos forneceu o material para o estudo desta gregarina, aqui deixamos os nossos agradecimentos.

Gregarina elegans PINTO, 1918.

(Est. 2 Fig. 37).

Dimensões do protozoario e as suas partes componentes: comprimento total 75 micra; idem do protomerito 10 micra; largura do mesmo 24 micra; idem do deutomerito 32 micra; comprimento do nucleo 12 micra; largura do mesmo 5 micra; cariosoma 2 micra.

Relações entre essas dimensões: relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total da gregarina 1:7,5; relação entre a largura do deutomerito e a do protomerito 1 1,2; relação entre a largura do protomerito para o comprimento do mesmo 1:2,4.

Protomerito curto achatado no sentido antero-posterior, possuindo no centro uma formação oval cujo maior diametro é disposto no sentido transversal,

Não podemos identificar esta formação a um nucleo por isso que não apresenta estrutura peculiar á deste orgão. Na extremidade anterior do protomerito existe uma serie de filamentos.

Deutomerito piriforme. Epicito bastante espesso no deutomerito, fino em o protomerito. Endocito de constituição granulosa e de côr parda no protomerito; no deutomerito ele tambem possue identica estrutura, sendo entretanto, de côr mais escura. Nucleo. Em preparados fixados pelo sublimado alcool de SCHAUDINN e corados pela hematoxilina ferrea, segundo HEIDENHAIN, observámos melhor a estrutura desta parte do protista. O nucleo apresenta a fórma d uma pera, possuindo cariomembrana bastante pronunciada e de espessura desigual. No interior dele e na parte anterior existe um cariosoma de fórma um tanto oval. Não conseguimos ver centriolo no interior ou fóra do cariosoma. Linina irregularmente disposta no interior do nucleo.

Movimentos. Esta gregarina possue mobilidade, deslocando-se sempre para a frente e não possuindo movimentos de retorno como se observam na *Gregarina aragãoi*.

Cistos e sizigias não conseguimos observar.

Hospedador: *Scolopendra* (sp.)
Habitat: intestino.
Procedencia: Rio de Janeiro.
Epoca: Setembro de 1917.

Gregarina watsoni PINTO, 1918.
(Est. 2 e 3 Figs. 39—43).

Dimensões dos exemplares por nós observados: fórmas em evolução desde 54 micra de comprimento até esporontes medindo 350 micra de extensão.

Dimensões de um exemplar possuindo ainda o epimerito (Fig. 41): comprimento total 130 micra; idem do epimerito 12 micra; largura do mesmo 20 micra; comprimento do protomerito 25 micra; largura do mesmo 38 micra; largura do deutomerito 40 micra. Nucleo com 10 micra de diametro, cariosoma com 4 micra.

Dimensões do esporonte: comprimento total 350 micra; idem do protomerito 52 micra; largura do mesmo 104 micra; idem do deutomerito 152 micra. Nucleo com um diametro de 30 micra, cariosoma com 10 micra.

Dimensões da sizigia 570 micra; comprimento do primito 300 micra; idem do sateilte 270 micra.

Epimerito globular, não possuindo movimentos apreciaveis. Protomerito com pequenas variações de estrutura, conforme se considerar um protozoario ainda joven, em evolução ou já no estado de esporonte. Nas fórmas jovens, esta parte do protista se apresenta mais ou menos cilindro-conica e possue pequena constricção na parte média. Nos estadios intermediarios (possuindo epimerito) o protomerito apresenta a fórma um tanto piramidal, observando-se constantemente uma constricção em sua parte média. Nos protomeritos dos esporontes, porém já não é observado este caracter, apresentando-se eles apenas com uma porção semi-globulosa de plasma. Os esporontes possuem um protomerito muito menor e não tem epimerito. O septo é mais ou menos plano em as fórmas jovens e intermediarias, e faltando nos esporontes.

Deutomerito piriforme nas gregarinas jovens; cilindrico, terminando em ponta romba nas fórmas intermediarias. Nos esporontes ele é completamente cilindrico. Movimentos. A gregarina move-se em linha recta com certa rapidez, ás vezes porém ela estaciona por alguns segundos e, então, a parte posterior do deutomerito curvando-se sobre sua parte anterior, efetua movimentos de curvatura para a direita e para a esquerda, apresentando neste caso o deutomerito a fórma de um V. (Fig. 43).

Epicito bastante apreciavel nos esporontes e ausente nas fórmas jovens e

intermediarias. Endocito de côr parda e de constituição granulosa no protomerito e no deutomerito, sendo mais claro na parte anterior do epimerito e no protomerito do esporonte. Nucleo com a fórma redonda, possuindo um grande cariosoma. Sizigia. Observámos alguns exemplares.

Ao Dr. ADOLPHO LUTZ que teve a gentileza de classificar o hospedador deste gregarina, e ao Dr. MAGARINOS TORRES que nos forneceu o material para este estudo, os nossos agradecimentos.

Hospedador: *Omoplata normalis* Germ. (Coleoptero).

Habitat: intestino.

Procedencia: Nictheroy.

Epoca: Abril de 1918.

Gregarina chagasi PINTO, 1918.

(Ests. 2 e 4 Figs. 38 e 56—60).

Dimensões do protozoario: comprimento total 130 micra; idem do protomerito 35 micra; largura do mesmo 50 micra; idem do deutomerito 50 micra. Nucleo 10 micra. Relações entre essas dimensões: relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total 1:3,6; relação entre a largura do protomerito e a do deutomerito 1:1,5; relação entre a largura do protomerito para o comprimento do mesmo 1:1,5.

Protomerito de fórma sub-globular, achatado no sentido antero-posterior, conservando-se com esta morfologia desde os estadios jovens da gregarina. Deutomerito com a fórma cilindrica. Em os estadios jovens do protozoario, se estreita na parte posterior. A' medida que a gregarina evolue para esporonte, o deutomerito sofre alteração na sua morfologia e apresenta então, igual largura em toda a sua extensão. Nos estadios intermediarios o deutomerito apresenta-se com a fórma cilindrica, quasi sub-globular; depois, isto é, quando esporonte ele toma uma fórma alongada com achatamento na parte posterior.

Epicito com espessura uniforme, bastante flexivel. Em estadios jovens desta gregarina notámos na parte posterior do deutomerito, mionemas bem visiveis (Fig. 57). Endocito de côr amarela com granulações esparsas no protomerito e no deutomerito. Em alguns espécimens notámos uma faixa hialina na parte anterior do deutomerito (Fig.58).

Nucleo redondo com membrana nuclear ás vezes bem nitida e apresentando em alguns exemplares um cariosoma redondo e um pouco excentrico (Fig. 58).

Cistos. Observámos cistos que tem a fórma ovoide e com dimensões muito pequenas (Fig. 59 e 60). Esporos não conseguimos observar.

Movimentos. Gregarina com deutomerito flexivel no terço anterior, dando lugar a que a parte anterior do protista isto é, protomerito e pequena porção do deutomerito se dobre para a direita e para a esquerda (Fig. 56). Depois do protozoario efetuar tais movimentos, avança pequena porção em linha recta e estaciona por alguns segundos, havendo exemplares que se movem para diante e para traz.

Hospedador: *Conocephalus frater* Redt. (Gafanhoto).

Habitat: intestino.

Procedencia: Manguinhos.

Epoca: Dezembro de 1917.

Ao Professor Dr. A. DA COSTA LIMA, da Escola de Agricultura, os nossos agradecimentos por haver classificado o hospedador desta especie de gregarina.

Gregarina aragãoi PINTO, 1918.

(Ests. 3, 4, 5 Figs. 44—47, 50—55, 61, 62. 72—78).

Dimensões da gregarina: comprimento total 170 micra; largura do deutomerito 70 micra; comprimento do protomerito 30 micra; largura do mesmo 40 micra; comprimento do epimerito 10 micra; largura do mesmo 10 micra. Sizigia: comprimento do primito 160 micra; largura do mesmo 160 micra; comprimento do satelite 150 micra; largura do mes-

mo 140 micra; nucleo 12 micra de diametro; cariosoma 8 micra. Epimerito de fórma cilindrica com a extremidade arredondada, pouco movel, ás vezes deslocando-se para a direita ou para a esquerda.

Protomerito de morfologia variavel conforme o estado de evolução da gregarina, ou apresenta a fórma quasi hemisferica, (o que se nota nos estadios jovens do protista) ou se nos apresenta com a fórma cilindrica, arredondada na extremidade anterior.

Deutomerito de fórma oval, mais ou menos alongada. Epicito de espessura uniforme e bastante flexivel. Endocito claro hialino em alguns exemplares, tornando muitas vezes quasi invisivel a gregarina. Em outros exemplares o endocito é de côr parda claro, tornando dest' arte bem visivel o protozoario. Em preparados corados pela hematoxilina ferrea (metodo de HEIDENHAIN) o endocito apresenta uma estruutura alveolar.

Nucleo (Fig. 78) redondo com membrana nuclear bem visivel. A maior parte das vezes o nucleo é central, entretanto vimo-lo na parte anterior do deutomerito e excentricamente. Em córtes de intestino fixados pelo sublimado alcool de SCHAUDINN e coloridos pela hematoxilina de HANSEN, pudémos observar melhor a estrutura do nucleo. Este apresenta um grande cariosoma. Comumente notámos um granulo cromatico em a zona do suco nuclear, quasi sempre muito proximo e ligado ao cariosoma por um delgado filamento ou véo de cromatina. ASTROGILDO MACHADO observou tais granulos no *Schizocystis spinigeri* MACHADO. HARTMANN, PROWAZEK e MACHADO consideram estes granulos cromaticos como sendo centriolos saídos do cariosoma. O nucleo quasi sempre possue granulos volumosos de cromatina.

A fórma do cariosoma é quasi sempre redonda. Sizigias observámos algumas vezes (Fig. 61 e 62). A fig. 61 representa uma fórma de pre-encistamento das gregarinas. Esporos não conseguimos observar.

Movimentos e mudança de fórma. —Alguns exemplares tem movimentos rapidos para a frente, outros, para a direita ou para a esquerda. Nestes ultimos movimentos o protozoario dobra-se sobre si mesmo, e o endocito se condensa de tal maneira que a fórma da gregarina é bem diversa da normal (Fig. 51). Observámos espécimens desta gregarina que tomavam a fórma um tanto arredondada e moviam-se á maneira de um ciliado (Fig. 50), após alguns segundos a gregarina tomava uma fórma um tanto alongada e continuava a se deslocar para diante ou para os lados.

Ciclo evolutivo. Só conseguimos observar uma parte do ciclo evolutivo da *Gregarina aragãoi* embora tivessemos examinado grande numero de coleopteros hospedadores deste esporozoario. Não conseguimos ver os espóros nem os cistos em diversos gráos de maturidade, impedindo-nos deste modo a observação dos gametos, sua conjugação, copula, formação de zigoto, espóros e esporozoitos.

Apezar de possuir o hospedador um intestino extremamente fino, fisemos a fixação em sublimado alcool de SCHAUDINN, incluimo-lo em parafina e praticámos cóles seriados em toda a extensão dele, colorindo-os pela hematoxilina ferrea de HEIDENHAIN.

O esporozoito de fórma alongada afasta os cilios da celula epitelial nela penetrando (Fig. 73); uma vez dentro da celula epitelial o esporozoito afasta o nucleo da celula parasitada e toma a fórma oval (Fig. 72). Em estado mais adiantado de evolução, o joven parasito apresenta dois segmentos (Fig. 75 ou os tres (Fig. 74) localisando-se o seu nucleo no deutomerito. Depois de parasitar e de se desenvolver á custa da celula epitelial a gregarina abandona-a (Fig. 75), ficando por algum tempo preso a ela pelo epimerito (Fig. 76). Muitas vezes as gregarinas permanecem por algum tem-

po assim presas e em se destacando da celula parasitada deixam o epimerito á ela apenso, ou então o protozoario se destaca e conserva-o por muito tempo.

Hospedador: *Systena* (sp.) pequeno coleoptero.

Habitat: intestino.

Procedencia: Manguinhos.

Gregarina légeri PINTO, 1918.

(Est. 6 Fig. 86).

Dimensões do protozoario: comprimento total 290 micra; idem do protomerito 60 micra; largura do protomerito na parte anterior 70 micra; idem na parte posterior 50 micra; largura do deutomerito 60 micra; idem do deutomerito na parte dilatada 80 micra. Nucleo 50 micra por 30 micra.

Relações entre essas dimensões: relação entre o comprimento do protomerito e o comprimento total 1:4,8; relação entre a largura do protomerito e a do deutomerito 1:1; relação entre a largura do protomerito para o comprimento do mesmo 1:1.

Protomerito curto, cilindrico e mais largo na parte anterior; aí esta parte da gregarina apresenta vestigios do epimerito que se destacou.

Deutomerito cilindrico, terminando na parte posterior por uma porção dilatada em esfera, o que torna a *Gregarina légeri* facil de se distinguir de todas as outras.

Epicito de duplo contorno, não apresentando estriação aparente. Endocito granuloso de côr parda no protomerito e no deutomerito. Nucleo de fórma oval e situada na parte posterior dilatada do deutomerito. Cistos e espóros não conseguimos observar.

Esta especie de gregarina só encontrámos uma vez parazitando *Stylopyga americana.*

Hospedador: *Stylopyga americana.* (Barata).

Habitat: cavidade intestinal.

Procedencia: Rio de Janeiro. Léme.

Epoca: Dezembro de 1917.

Ao Dr. ABELARDO MELLO que nos forneceu material para o estudo desta gregarina, os nossos agradecimentos

Botriopsis claviformis PINTO, 1918.

Est. 4 Figs. 63—67

Dimensões. Observámos exemplares que mediam de 100 a 200 micra de comprimento. Largura do deutomerito 50 micra; comprimento do protomerito 35 micra; largura do mesmo 70 micra.

Epicito bem desenvolvido. Protomerito achatado no sentido antero-posterior, sempre muito mais largo que o deutomerito, formando com este um conjunto claviforme. Na maior parte dos exemplares notamos na parte anterior do protomerito uma zona clara desprovida de granulações.

Deutomerito mais largo na parte anterior, terminando posteriormente sempre por uma extremidade romba. Nesta parte da gregarina existem em quasi todos os exemplares, manchas de fórmas diversas. Estas manchas são de constituição granulosa, sempre porém, mais claras que o resto do endocito do deutomerito.

No protomerito nunca notámos tais manchas. O septo é sempre concavo e penetra no protomerito á maneira de uma cunha. O nucleo póde ser redondo, oval ou em fórmas de alteres. Cistos desconhecidos.

Hospedador: Larva de *Aeschnida* (Odonata).

Habitat: intestino.

Procedencia: Manguinhos.

Epoca: Julho de 1918.

Ao Dr. ADOLPHO LUTZ que nos forneceu material para o estudo deste protista os nossos agradecimentos.

Monocystis perforans PINTO, 1918.

(Ests. 4, 5 e 6 Figs. 68—71, 94—100).

FORMAÇÃO DOS ESPOROZOITOS OBSERVADA IN VITRO.—Como a pre-

sente monocistidea apresentasse grande quantidade de espóros, resolvemos observar a formação dos esporozoitos, o que conseguimos com relativa facilidade. Para apreciarmos tal fenomeno tomámos cistos contendo sómente espóros em diversos gráos de maturidade e misturamo-los com solução fiziologica a 8,5°/°°, depois colocámos a mistura em uma camara humida na temperatura de 21°. Meia hora depois de havermos observado o espóro, lentamente formou-se o primeiro esporozoito; no fim de uma hora haviam se formado seis esporozoitos com espaço de tempo mais ou menos igual para cada um deles. Não podemos contar os outros dois esporozoitos por estarmos trabalhando com material em estado fresco, porém, em preparações ulteriormente coradas pelo metodo de HEIDENHAIN ou pelo hemalume-eosina, verificámos possuir o referido espóro, oito esporozoitos.

Espóro. O *Monocystis perforans* possue espóros biconicos providos de uma parede resistente com polos semelhantes, regulares e lisos (angioespóro). Endoesporo de fórma oval com oito esporozoitos em fórma de crescente, tendo cada um deles um nucleo centralmente colocado. Os esporozoitos medem cinco micra de comprimento por um *micron* de largura. O espóro mede 24 micra de extensão por 7.5 micra de largura. O endoesporo tem 14 micra de comprimento por 6,5 micra de largura. Na parte média do espóro observámos a fresco e em preparações coradas, uma pequena formação redonda contornada por sete outras, formando dest'arte o conjunto uma figura de rosacea. Esta figura de rosacea representa o *reliquat* do espóro.

O corpo do *Monocystis perforans* apresenta-se com fórmas diversas, predominando entre elas a cilindrica. As gregarinas podem ser observadas isoladas ou em sizigias. Os esporontes são vistos a olho nú e medem 1.200 micra por 800 micra de largura. Os nucleos dos esporontes que medimos tinham 150 micra de comprimento por 50 micra de largura; cariosoma de fórma arredondada e irregularmente disposto no interior do nucleo. O protoplasma desta gregarina é grandemente vacuolado em toda a extensão do protista.

Agradecemos ao Professor CARLOS MOREIRA, do Museu Nacional a finesa de haver classificado o obligoqueto hospedador do *Monocystis perforans*.

Hospedador: *Glossoscolex wiengreeni* Mchlsn. (Michocuçú).

Habitat: testiculo.

Procedencia: Rio de Janeiro (Gavea).

Epoca: Julho de 1918.

Explicação das figuras.

Fig. 1 Espóro da *Fonsecaia polymorpha* PINTO, 1918

Fig. 2 Fórma redonda da *Fonsecaia polymorpha.*

Fig. 3 Fórma redonda da *Fonsecaia polymorpha* vista de cima para baixo.

Figs. 4—10 Fórmas em evolução da mesma gregarina. Na fig. 7 os mionemas são visiveis sómente na metade anterior do deutomerito.

Fig. 11 O mesmo exemplar da fig. 17 (esporonte) que se contraio e tomou a fórma da fig. 11.

Fig. 12 *Fonsecaia polymorpha* em fórma de vaso; na parte anterior do deutomerito vem-se os mionemas.

Figs. 13—16 *Fonsecaias* evoluindo para esporontes.

Fig. 17 Esporontes de *Fonsecaia polimorpha.* O protomerito é pequeno em relação ao deutomerito. O epimerito não possue granulações. Na parte média do esporonte existe uma faixa clara devido ao afastamento das granulações do endocito. Mionemas muito nitidos colocados na parte média do esporonte. Nucleo em fórma de rosacea contendo um carisoma.

Figs. 18—24 Fórmas jovens da *Gregarina magalhãesi* PINTO, 1918. O epimerito é bem visivel em todos os exemplares, com excepção do da fig. 23 que não possue tal formação. Nas figuras 20-22 o epimerito é ameboide e como tal muda de aspéto conforme os movimentos efetuados pelo protomerito.

Figs. 25—28 Fórmas da mesma gregarina evoluindo para esporonte.

Fig. 29 Esporonte da *Gregarina magalhãesi.* Nucleo invisivel. O epicito fórma dobras e penetra em um terço do endocito.

Figs. 30 e 31 *Gregarina brasiliensis* PINTO, 1918. Coloração pela hematoxilina ferrea (metodo de HEIDENHAIN). A fig. 30 representa uma gregarina em repouso e a fig. 31 um exemplar em movimento. Nucleo de fórma oval na fig. 31 e liptico em a fig. 30. Dentro do nucleo vêm-se massas de cromatina de tamanhos e fórmas diversas, fortemente coloridas pela hematoxilina ferrea. Linina em fórma de granulos.

Fig. 37. *Gregarina elegans* PINTO, 1918.

Fig. 32—36 *Stenophora lutzi* PINTO, 1918. O exemplar da fig. 32 perdeu o epimerito, os demais possuem'no. Todos os exemplares são nucleados, o da fig. 36 mostra um cariosoma redondo.

Figrs. 38, 56—60 *Gregarina chagasi* PINTO, 1918. As figuras 57 e 58 são fórmas jovens da gregarina; a fig. 38 representa uma fórma em evolução, o septo é invisivel. A fig. 56 representa o esporonte. Fig. 59 e 60 cistos desta gregarina. Na fig. 57 vêm-se mionemas na parte terminal do deutomerito. Na fig. 58 ve-se uma faixa hialina colocada na parte anterior do deutomerito.

Fig. 39—43 *Gregarina watsoni* PINTO, 1918. Fig. 39 fórma joven da gregarina. Na parte anterior do protomerito existe uma mancha escura. A fig. 40 representa uma fórma em movimento, vendo-se o epimerito e o protomerito dobrados sobre o deutomerito. Fig. 42 sizigia da gregarina. A fig. 41 mostra o epimerito, o protomerito e o deutomerito da *Gregarina watsoni.*

Fig. 43 Esporonte da *Gregarina wa-*

tsoni. O deutomerito está recurvado para um dos lados.

Fig. 49 *Stenophora polydesmi* (Lak) WATSON.

Figrs. 44—47, 50—55, 61 e 62. *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918. A fig. 55 representa um exemplar muito pequeno desta gregarina visto com grande aumento, o protista possue os tres segmentos. Fig. 45 e 46 exemplares em evolução possuindo epimerito. A fig. 50 representa um exemplar de *Gregarina aragãoi* visto de cima para baixo, nesta posição o protozoario roda para a direita e depois para a esquerda como se fosse um ciliado. A fig. 51 representa um exemplar visto em posição obliqua e dirigindo-se para a mesma posição do exemplar da fig. 50.

Figrs. 52 e 53 Exemplares desta gregarina evoluindo para esporonte.

Fig. 54 Esporonte da *Gregarina aragãoi* (exemplo tipico de uma gregarina.)

Figs. 61 e 62. A fig. 62 representa uma sizigia desta gregarina e a Fig. 61 outra em estado de pre-encistamento; o satelite da fig. 61 está com o protomerito achatado.

Figs. 63—66 *Bothriopsis claviformis* PINTO, 1918.

Fig. 67 Cistos de *Bothriopsis claviformis*.

Fig. 68 Cisto de *Monocystis perforans* PINTO, 1918. com gametos.

Fig. 69 Cisto da mesma gregarina com espóros.

Fig. 70 Exemplar de *Monocystis perforans*.

Fig. 71 Sizigia de *Monocystis perforans*.

Figs. 72—76 Fórmas endocelulares da *Gregarina aragãoi*.

Fig. 73 Esporozoito da *Gregarina aragãoi* penetrando em uma celula epitelial.

Fig. 72 Esporozoito evoluindo para a formação de uma gregarina.

Fig. 74 *Gregarina aragãoi* já formada e parasitando uma celula epitelial.

Fig. 75 *Gregarina aragãoi* saindo de uma celula epitelial.

Fig. 77 Cisto da *Gregarina aragãoi*.

Fig. 78 Nucleo da *Gregarina aragãoi* desenhado com oc. 3 e obj. im. 1/12.
Junto do nucleo vê-se o centriolo contornado por uma zona clara.

Figs. 79—80 *Stenophora umbilicata* PINTO, 1918.

Fig. 81 *Stenophora tenuicolis* PINTO, 1918.

Figs. 82—85 *Stenophora lutzi* PINTO, 1918.

Fig. 84 Exemplar muito joven de *Stenophora lutzi*.

Fig. 86 *Gregarina légeri* PINTO, 1918.

Fig. 87 Fórma joven de *Stenophora cunhai* PINTO, 1918.

Fig. 88 Esporonte de *Stenophora cunhai*.

Fig. 89 Esporonte de *Stenophora cruzi* PINTO, 1918.

Fig. 90—92 *Stenophora viannai* PINTO, 1918. A fig. 92 representa o protomerito e o deutomerito com uma papila.

Fig. 93 Nucleo de *Protomagalhaensia serpentula* (MAGALHÃES, 1900) desenhado com oc. 6 comp. e obj. 1,8. A fig. 48 representa uma sizigia desta gregarina.

Fig. 94—100 Espóros de *Monocystis perforans* PINTO, 1918. desenhados com oc. 4 e obj. im. 1/12. No centro do espóro vê-se a figura de uma rosacea constituida pelo *reliquat* do espóro. Da fig. 95 em diante vêm-se os esporozoitos dentro do espóro.

BIBLIOGRAFIA (1)

A.

1. AWERINZEW, S. Beobachtungen uber die Vorgange der Schizogonie bei Gregarinen aus den Darm von... In Archiv f. Protistenkunde. Iena. Vol. 16 pag. 71.

B.

2. BRASIL, L. 1905 La reproduction des Gregarines monocystides. In Arch. zool. exp. Paris. (4) t. III pag. 17 e t. IV pag. 69.

3. BRASIL, L. 1905/6 Nouvelles recherches sur la reproduction des gregarines monocystides. In Arch. zool. exp. (4) t. IV pp. 69—99 pl. IX—X.

4. BRASIL, L. 1908 Le genere Doliocystis. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. 146.

5. BRASIL, L. 1909 Documents sur quelques sporozoaires d'Annelides. In Archiv f. Protistenkunde. Iena. Vol. XVI pag. 107.

6. BOLDT. 1910 In den Samenblasen der ostpreussichen Regenwurmer parasitierenden Monocystideen, In Sch. der Phy. oknomischen Gesell. zu Konisgsberg. pp. 55—66.

7. BOLDT, MARTIN Zwei neue Gregarinenarten aus *Octalasium complanatum* Ant, Dugés. In zool. Anzeiger. Vol. 36 pp. 289—293.

8. BUETSCHLI, Dr. O. 1880/82 Klassen u. Ord. des Thier-Reichs. (Frster Band) Protozoa. pp. 503 pl. XXXII—XXXVII.

9. BRUCH 1850 Einige Bemerkungen uber die Gregarinen. In Zeit. u. Zool. Vol. II pag. 110.

10. BEDDARD 1888 Note on a new gregarine. In Proc. Zool. Soc. Londres pp. 354.

11. BERNDT, Dr. ARTHUR 1902 Beitrage zur Kennntnis der im Darme der Larve von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen. In Archiv f. Protistenkunde, Iena. Vol. I. pp. 375—420 pl. XI—XIII.

C.

12. CALKINS, GARY N. 1915 *Microtaeniella clymenellae,* a new genus and new species of colonial gregarines. In Biol. Bull. of the Marine Biol. Lab. Vol. XXIX N. lpp. 46—49.

13. CAULLIERY e MESNIL Le parasitisme des gregarines. In C. R. Acad. Sc. Paris t. CXXXII pag. 220 e C. R. Soc. Biol. Paris. t. III—4. pag. 84.

14. CAULLERY, M. et MESNIL 1898 Sur une gregarine celomique presentant dans son cycle évolutif une phase de multiplication asporulee *(Gonospora longissima).* In C. R. Soc. Biol. Paris L. 65 e C. R. Acad. Sc. Paris t. CXXVI—3 pag. 262.

15. CAULLERY & MESNIL 1900 Sur un mode particulier de division nucléaire chez les grégarines. In Ach. Anat. micros. t. III.

(1) Bibliografia até 1919, epoca que entregámos o trabalho para impressão.

16. CECCONI, J. 1902 De la sporulation de la *Monocystis agilis* Stein In Arch. Anat. micros. t. V. pp. 122—140 pl. V.

17. COMES, Dr. S. 1907 Untersuchungen uber den Chromidialapparat der Gregarinen In Archiv f. Prot. Iena. Vol. 10 pp. 416—440 pl. XIX-XX.

18. CRAWLEY, H. 1902 The progressive movement of Gregarines. In Proc. of the Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia. Vol. LIV. Part I. pp 4—19 pl. I—II.

19. CRAWLEY, H. 1903 List of the Polycistid Gregarines of the United States. In Proc. of the Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia. Vol. LV. part. I pp. 41—58 pl. I—III.

20. CRAWLEY, H. 1904 The Polycistid Gregarines of the United States (second contribution) In Proc. of the Acad. of Nat. Sc. of Philadelphia. Vol. LV part. III pp. 632—644. pl. XXX.

21. CUENOT, L. 1897 Evolution des gregarines coelomiques des grillon domestique. In C. R. Ac. Sc. Paris. Vol. CXXV. pag. 52.

22. CUENOT, L. 1899 Sur la pretendue conjugaison des Gregarines. In Arch. de Biol., t. VII.

23. CUENOT, L. 1902 Recherches sur l'évolution et la conjugaison des gregarines. In Archives de Biol. Vol. 17 pp. 581—652.

24. CUNNINGHAM, J. T. 1907 On *Kalpidorhyncus arenicolae* a new Gregarine parasitic in *Arenicola ecaudata*. In Archiv fur Protist. Iena. Vol. 10 pp. 199—215 pl. VI—VII.

24a. CUNHA, R, DE AL. 1919 Sobre a *Gregarina neo-brasiliensis* AL. CUNHA, 1919. Trabalho apresentado á Faculdade de Medicina de Bello Horizonte (Minas Geraes. Brasil).

D.

25. DOBELL, C. C. 1909 Chromidia and the Binuclearity Hypotheses. In Quarterly Jour. of Micr. Sci. Londres. Vol. 53 pp. 295—298.

26. DOFLEIN, Dr. F. 1911 Lehrbuch der Protozoenkunde.

27. DOGIEL, VALENTIN 1906 Beitrage zur Kenntnis der Gregarinen. I. *Cystobia chiridotae* nov. sp. In Arch. f. Protist. Iena Vol. VII pp. 106—130 pl. III.

28. DOGIEL, V. 1909 Beitrage zur Kenntnis der Gregarinen. III. Uber die Sporocysten der Colom-Monocystidae. In Arch, f. Protist. Iena, Vol. 16 pp. 194—208.

29. DOGIEL, V. 1910 Beitrage zur Kenntnis der Gregarinen. IV *Callynthrochlamys phronimae* Frez. u. a. m. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 20 pp. 60—78.pl. VII.

30. DRZEWIECKI, Dr. WS. 1907 Uber vegetative Vorgange im Kern und Plasma der Gregarinen. II *Sotmatophora coronata* nov. gen. *(Monocystis coronata Hesse)* In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 10. pp. 216—246.

31 DUFOUR, LEON 1837 Recherches sur quelques Entozoaires et larves parasites des insectes Orthoptéres et Hyménoptéres. In Ann. Sc. nat. p. zool. (s. 2), t. 7 pp. 5—20.

E.

32. ELLIS, MAX. M. A descriptive List of Cephaline Gregarine of the New World. In Trans. of Amer. Micr. Society. Vol. XXXII. N. 4 pp. 259—296. pl. XVII—XX.

33. ELLIS, M. M. 1918 Five polycistid Gregarines from Guatemala. In Zool. Anzeiger. Leipzig. Vol. 39 pag. 680—89.

34. ELLIS, M. M. 1913 Three gregarines from Louisiana. In Zool Anzeiger. Leipzig. e Berlin Vol. 42 pp. 200—2.

35. ELLIS, M. M. 1914 An acanthosporid gregarine from North Amer. dragonfly nymphs. In Trans. Amer. Micr. Soc. Illinois. Vol. XXXIII N. 4 pp. 215—222.

F.

36. FRENZEL, J. 1855 Uber einige in Scethieren lebende Gregarinen. In Arch. f. mikr. anat. Vol. XXIV pp. 545—588 pl. XXV—XXVI.

37. FUCHS, Dr. G. 1915 Die Naturgeschichte der Nematoden u. einiger anderer Parasiten im Darm des *Hylobius abietis* L., *Clepsidrina* hylobii n. sp. In Zool. Jahrbucher. Iena. Vol. 38 pp. 203/4.

G.

38. GABRIEL, B. 1880 Zur classification der Gregarinen. In Zool. Anz. Vol. 3 pp. 569—72.

H.

39. HARTMANN, PROF. Dr. MAX. 1906. Das System der Protozoen. In Archiv f. Protist. Iena. Vol. 10 pp. 139—158.

40. HASSELMANN, PROF. Dr. GUSTAVO 1918 Contribuição para o estudo das gregarinas. IN BRASIL-MEDICO. Rio—N. 32 de 10—8—918. *(Ancora lutz* n. sp.)

41. HASSELMANN, PROF. Dr. G. 1918 Um novo esporozoario pertencente á ordem *Gregarinida* Buetschli, 1882. In BRASIL-MEDICO. Rio. N. 38 de 21—9—918.

42. HASSELMANN, PROF. Dr. G. 1918 Novos esporozoarios da ordem *Gregarinida* Buetschli, 1882. In BRASIL-MEDICO, N. 40 de 5—10—1918.

43. HASSELMANN, PROF. Dr. G. 1918 Novos esporozoarios da ordem *Gregarinida* Buetschli, 1882. In BRASIL-MEDICO N. 47 de 23—11—918.

44. HASSELMANN, PROF. Dr. G. 1918 Novos esporozoarios da ordem *Gregarinida* Buetschli, 1882. In BRASIL-MEDICO N. 44 de 2 de Novembro de 1918.

45. HENEGUY 1887 Formation des spores de la Gregarine du lumbric. In C. R. Soc. Biol. (3) t. 4 pp. 439—442.

46. HENEGUY 1888 Formation des spores de la Gregarine du lumbric. In Ann. Microgr., t. I.

47. HESSE, ED. 1909/10 Contribution a l'étude des Monocystidées des oligochetes. In Arch. zool. exp. (5) t. 3 pp. 27—30 1 pl. VII.

I.

48. ISHII, SHIGEMI 1915 On a new Polycistid Gregarine, *Spirosoma caudata* nov. gen., e nov. sp., from a Diplopod. In Annotationes Zoologicae Japonenses. Tokyo. Vol. IX pp. 7—9.

K.

49. KEILIN, D. 1918 On the occurence of a cephalina Gregarine, *Leidyana tineï* n. sp. im lepidopterous larve. In Parasitology. Londres. Vol. 10 N. 3 pp. 406—410.

50. KISSKALT, K. und HARTMANN, Dr. MAX 1910 Pratikum der Bakteriologie und Protozoologie.

51. KÖLLIKER, A. 1849 Beitrage zur Kenntniss niederer Thiere. In Zeitschrift f. Wissenschaftliche Zoologie. Vol. I pp. 1—37 pl. I—III.

52. KUSCHAKEWITSCH, SERGIUS 1907 Beobachtungen uber vegetative, degenerative und germinative Vorgange bei den Gregarinen des Mehlwundarms. In Arch. f. Protist. Iena. Supl. I pp. 202—249 pl. XII—XVII e 12 fig. no texto.

53. KUNSTLER, M. J. 1887 *Diplocystis schneideri* nov. gen., nov. sp. In Tablettes Zool. Poitiers. t. 2 (n. 1 e 2) pp. 25—66 pl. IX.

L.

54. LABBÉ, ALPHONSE Das Thierreich (Sporozoa).

55. LABBÉ, & RACOWITZA 1897 Gregarine nouvelle parasite des Maldawiens. In Bul. Soc. Zool. France t. XXII.

56. LANKESTER, E. RAY 1863 Gregarines. In Quart. Jour. Microsc. Sc. t. III pp. 83—96 pl. VII.

57. LANKESTER, E. R. Notes on the Gregarinide. In Trans. Micr. Soc. Vol. XIV n. s. pag. 27 pl. V fig. 89.

58. LAVERAN, A. et MESNIL, F. 1900 Sur quelques particularités de l'évolution d'une Gregarine, et la réation de la cellule hote. In C. R. Soc. Biol. Paris. t. 52 pp. 554—7.

59. LÉGER, LOUIS 1892 Recherches sur les Grégarines. In Tabl. Zool. Poitiers. t. 3 N. 1 e 2 pp. 1—182 pl. I—XXII.

60. LÉGER, L. 1893 Sur une Gregarine nouvelle des Acridiens d'Algerie. In C. R. Acad. Sc. Paris. Vol. 117 pp. 811—13.

61. LÉGER, L. 1894 Sur une nouvelle Gregarine de la familie *Dactilophoridae*. In. C. R. Acad. Sc. Paris, liv. 118 pp. 1285—88.

62. LÉGER, L. 1897 Contributioon á connaissance des sporozoaires parasites des Echinodermes. In Bull. Scient. France et Belgique. t. XXX.

63. LÉGER, L. Les Gregarines et l'epithelium intestinal. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. CXXX.

64. LÉGER, L. Sur la morphologie des elements sexuels chez les Gregarines *Stylorhynchidae*. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. CXXXII.

65. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1899 Notes biologiques sur les grillions. In Arch. Zool. exper. Paris. (3) t. VII pag. XXXV.

66. LÉGER, L. 1900 Sur les Gregarines des Diptéres *(Stylocystis)* In. Ann. Soc. Ent. France. IXVIII—3 pag. 526.

67. LÉGER, L. et DUBOSCQ. O. 1900 Les Gregarines et l'epithelium intestinal. In C. R. Acad. Sc. Paris. Vol. 130 pag. 1556.

68. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1901 Sur les premiers states du développement de quelques Polycistides. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. CXXXIII pag. 439.

69. LÉGER, L. 1901 Les elements sexueles et la copulation chez les *Stylorhynchus*. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. CXXXIII.

70. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1902 Les Gregarines e l'epithelium intestinal chez les trachéates. In Arch. Parasitologie. Paris. t. 6. pp. 377—473 pl. II—VI.

71. LEGER, L. et DUBOSCQ, O. 1902 Les elements sexueles et la fecondation chez les *Pterocephalus*. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. 134.

72. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O, 1903 Recherches sur les myriapodes de Corse et leurs parasites. Avec la description des diplopodes por H. W. Brolemann. In Arch. Zool. expe. Paris. t. 1. pp. 307—356.

73. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1903 Note sue le developpement des Gregarines *Stylorhynchidae et Stenophoridae*. In Arch. zool. exp. (4) t. 1. N. 6. pp. XIV—XCV.

74. LÉGER, L. 1903 La reproduction sexueé chez *Pterocephalus*. In Arch. zool. exp. Paris. t. 1.

75. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1903 La reproduction sexueé chez *Pterocephalus*. In Arch. zool. exp. Paris. (4) t. 1. pp. CXLI—CXLVII.

76. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1903 La reproduction sexueé chez *Pterocephalus*. In Arch. zool. exp. Paris. t. 1. (4) pp. CXLI—CXLVII.

77. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1903 *Aggregata vagans* n. sp. Gregarine gymnosporeé. In Arch. zool. exp. Paris. (4) t. 1. N. 9 pp. CXLVII—CLI.

78. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1904 Nouvelles recherches sur les gregarines et l'epithelium intestinal. In Arch. f. Protistenkunde. Iena. t. IV.

79. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1906 Sur l'evolution des Gregarines gymnosporeés des crustaces. In C. R. Acad. Sc. Paris. t. 142 pag. 1225.

80. LÉGER, L. 1906 Etude sur Taeniocystis mira Léger. Gregarine métamerique. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. VII pp. 307—329 pl. XII—XIII.

81. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1907 L'evolution des *Frenzelina* n. gen. gregarines intestinales des crustacés décapodes. In C. R. Sc. Paris. Vol. 145 pp. 773 — 77[illegible].

82. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1909 Etudes sur la sexualité chez les gregarines. Arch. f. Protist. Iena. vol. 17 pp. 17—134 pl. I—V.

83. LÉGER, L. 1909 La reproduction sexucé chez les *Actinocephalidae*. In C. R. Acad. Sc. Paris. T. 148 pp. 190—193.

84. LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. 1915 *Porospora nephropis* n. sp. In C. R. Soc. Biol. Paris. t. 78 pp. 368—371.

85. LEYDIG 1851 Uber Psorospermien und Gregarinen. In Muller's Archiv pp. 221—274 tav. 8.

86. LIEBER-KUHN 1854/55 Evolution des Gregarines. In Mem. cour. Acad. roy. de Belgique, t. 26

87. LIEBER-KUHN 1854 Evolution des Gregarines. In Acad. roy. de Belgique. t. XXVI des mem. couronnés, 1854.

88. LUHE, Dr. M. 1904 Bau und Entwicklung der Gregarinen. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 4 pp. 88—198.

M.

89. MAGALHÃES, PROF. P. S. de 1900 Notes d'helminthologie brésilienne. In Arch. de Parasitoligie. Paris. t. III pp. 34—69.

90. MARTIIS, Dr. L. C. 1911 Descrizione d'una nuova Gregarina policistidea parasita d'un oligochete. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 23 pp. 247—252 pl. 11.

91. MARTIIS, Dr. L. C. 1911 Le monocistides e loro fenomini riproduttivi. In Arch. f. Protist. Iena. Vol 23 pp. 205—246.

92. MERCIER, L. 1912/13 Monographie D'*Uradiophora cuenoti*, Grégarine parasite du tube digestive de la Caridine. In Arch. zool. exp. et gen. (5) vol. 10 pp. 177—202 pl. XIII—XIV.

93. MINCHIN, 1917 An intr. to the Study of the protozoa. London.

94. MINGAZZINI, P. 1893 Contribito alla conoscenza dgli Sporozoi. In Ric. Lab. Anat. norm. Univers. Roma t. III.

95. MOROFF, Dr. T. 1908 Untersuchungen uber Coccidien. Gregarininfektion. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. VIII pp. 23—25.

96. MOROFF, Dr. T. 1903 Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregatarten etc. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 11 pp. 1—224.

97. MULSOW, KARL 1911 Uber Fortpflanzunserscheinunger bei *Monocystis rostrata* n. sp. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 22 pp. 20—55 pl. 2—6.

N.

98. NOWLIN, N. and SMITH, INEZ 1917 The intracellular developement of a Gregarine *Frenzelina ampelisca* n. sp. In The Jour. of Parasitology. Vol. IV N. 2 pp. 81—88.

99. NUSBAUN, J. 1993 *Schaudinnella heulae* mihi. In Zeitschr. f. wiss. Zool. t. LXXV pp. 281—307 pl. XXII.

P.

100. PAEHLER, F. 1904 Uber die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung von *Gregarina ovata*. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 4 pp. 64—87 pl. V e VI.

101. PFEFFER, E. 1910 Untersuchungen uber die Gregarinen im Darm der Larve von *Tenebrio molitor*. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. pp. 107—118 pl. III.

102. PIXELL-GOODRICH, H. 1916 On the Life History of the Sporozoa of Spatangoids, with Observations on some Allied Forms. In Q. Jour. of Micrs. Sc. Vol. 61 pp. 81—104 pl. 8.

103. POCHE, F. 1913 Das System der Protozoa. In Arch. f. Protist. Iena. Vol. 30 pp. 125—310.

104. PRENANT, A. 1903 Questions relatives aux cellules musculaires. In Arch. zool. exp. Paris. (4) t. I pp. C—CIV.

105. PROWAZEK, Dr. S. von 1902 Zur Entwicklung der Gregarinen. In Arch. f. Prot. Iena. Vol. I pp. 297—305 pl. IX.

106. PINTO, CEZAR FERREIRA 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos artrópodes brasileiros. Nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 7 de 16—2—918.

107. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Segunda nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 8 de 23—2—918.

108. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Terceira nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 9 de 2-3-918.

109. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Quarta nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 12 de 23—3—918.

110. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Quinta nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 13 de 30—3—918.

111. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Sexta nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 15 de 13—4—918.

112. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Setima nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 26 de 29—6—918.

113. PINTO, C. F. 1918 Sobre as eugregarinas parasitas dos atrópodes brasileiros. Oitava nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 30 de 27—7—918.

114. PINTO, C. F. 1918 Estudos sobre gregarinas. Nona nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 35 de 31—8—918.

115. PINTO, C. F. 1918 Estudos sobre gregarinas. Decima nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 38 de 21—9—918.

176. PINTO, C. F. 1918 Estudos sobre gregarinas. Decima-primeira nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 39 de 28—9—918.

117. PINTO, C. F. 1918 Estudos sobre gregarinas. Decima-segunda nota-prévia. In BRASIL-MEDICO. N. 41 de 12—10—918.

S.

118. SCHELLAK, C. 1904 Uber die Entwicklung und Fortpflanzung von *Echinomera hispida* (A. Sch.) In Arch. f. Protist. Iena. Vol. IX pp. 297—345.

119. SCHNEIDER, AIMÉ C. J. 1873 Sur quelques points de l'histoire du genero Gregarina. In Arch. zool. exp. Paris. t. II. pp. 515—533 pl. XX.

120. SCHNEIDER, A. C. J. 1875 Polydystides. In Arch. zool. exp. Paris. t., 4 pag. 514 e (1) t. 4 pp. 4—597.

121. SCHNEIDER, A. C. J. 1875 Contribution a l'histoire des Gregarines. In Arch. zool. exp. Paris. t. IV pp. 493—604 pl. XVI—XXIII.

122. SCHNEIDER, A. C. J. 1885 Etudes sur le développement des grégarines. In Tabl. zool. Poitiers. T. I. N. 1 e 2 pp. 10—24 pl. IV—VI.

123. SCHNEIDER, A. C. J. 1885 Grégarines nouvelles ou peu connues. In Tabl. zool. Poitiers. I. Nos. 1 e 2 pp. 25—30. pl. X—XI.

124. SCHNEIDER, A. C. J. 1885 Grégarines nouvelles ou peu connues, (deuxiéme article). In Tabl. zool. Poitiers. T. I. Ns. 3 e 4 pp. 90—103.

125. SCHNEIDER, A. C. J. 1885 Conference sur le parenté des coccidies et des gregarines. In Tabl. Zool. Poitiers. T. I. Ns. 3 e 4. pp. 104—120. pl. XXIX.

126. SCHNEIDER, A. C. J. 1896 Etudes sur le developpement des grégarines (deuxiéme article). In Tabl. zool. Poitiers. T. I Ns. 3 e 4 pag. 81. pl. XVIII.

127. SCHNEIDER, A. C. J. 1887 Grégarines nouvelles ou peu connue. In Tabl. zool. Poitiers. t. II N. 1 e 2 pp. 67—85. pl. X et X bis.

128. SCHNEIDER, A. C. J. 1892 Sur le genero *Pilocephalus*. In Tabl. Zool. Poitiers. T. 2 Ns. 3 e 4 pp. 199—207 pl. XXXI

129. SCHNEIDER, A. C. J. Contribution a l'histoire des Gregarines des Invertebrés de Paris et de Roscoff. In Arch. de Zool. exp. (1) t. 4 pag. 493 e Arch. de Zool. exp. t. 10 pag. 423.

130. SCHNITZLER, H. 1905 Uber die Fortpflanzung von *Clepsidrina ovata.* In Arch. f. Protist. Iena. Vol. VI pp. 309—333. pl. XVI—XVII.

131. SCHEWIAKOFF 1894 Uber die Ursache... Bewegung der Gregarinen. In Zeitsch. f. wiss. Zool.VII pag. 340.

132. SIEDLECKI, M. 1901 Contrib. à l'étude des changements cellulaires provoques par les gregarines. In Arch. Anat. microsc. t. 4 pag. 87.

133. SOKOLOW, B. 1911 Liste des gregarines décrites depuis 1889. In Zool Anzeiger. Leizig. t. 38. pp. 277-95.

134. SOKOLOW, B. 1912 Studien uber Physiologie der Gregarinen. In. Arch. f. Protist. Iena. Vol. 27 pp. 260—314.

135. STUARDT 1871 Uber den Bau der Gregarinen. In Bull. Ac. Imp. de Sci. de St. Petersbourg. t. 15 pp. 497—502. est. 15 fi. 1—5.

136. SWARCZEWSKY, B. 1912 Chromidien bei den Gregarinen. In Biol. Centralbl. Vol. 32 pp. 435—445 e 449—458.

T.

137. TRÉGOUBOFF, G. 1912 Sur les Grégarines des Balanes. In. Arch. zool. exp. Paris. (5) t. 10 pp. LIII—LXI.

W.

138. WOODCOCK, H. M. 1904 On *Cystobia irregularis* (Minch.) and allied «neogamous». Gregarines. In Arch. zool. exp. (4) t. II; Notes et Revues no. 8.

139. WATSON, M. E. 1916 Studies on gregarines. In Illinois Biological Monographs. Vol. II N. 3.

140. WATSON, M. E- 1916 Three new gregarines from marine crustacea In Jour. of Parasitology. N. 2 pp. 129—136. pl. I.

141. WATSON, M. E. 1916 Observations on Polycistid Gregarines from Orthopodes. In Jour. of Parasitology. Vol. III N. 2 doc. 1916 pag. 65.

142. WATSON, (KAMM) M. E. 1918 The Developement of Gregarines and their Relation the Host Tissues: in *Stenophora lactaria* M. E. Watson. In Jour. of Parasitology. t. II de 3—3—917. pp. 124—130 2 pl.

143. WATSON, (KAMM) M. E. 1918 New gregarines from coleoptera. In Jour. of Parasitology. Urbana (Illinois) N. 4 Vol. IV pp. 159—163, June de 918.

Sobre as relações entre precipitinas e precipitinogeno

pelo

Dr. J. DA COSTA CRUZ

A existencia concomitante de precipitinas e precipitinogeno em circulação no sangue de animaes vaccinados com sôros de especies afastadas é um facto mencionado de longa data e que pela sua significação apparentemente contraditoria attrahiu desde logo a attenção de numerosos autores.

LINOSSIER e LEMOINE parece terem sido os primeiros a verificar o fenomeno. EISENBERG estudou-o detalhadamente e tentou explicá-lo por um estado de equilibrio chimico regulado pela lei de acção das massas. VON DUNGERN em 1904, em numerosas precipitações demonstrou que esta reacção está fóra da alçada dessa lei e entrando minuciosamente na analyse do phenomeno concluiu por acreditar que nos sôros antigenicos, não existia um unico precipitinogeno, mas multiplos, os quaes despertavam nos animaes immunisados, precipitinas, não uma só, mas varias, com affinidade apenas para o precipitinogeno correspondente, de modo que a presença simultanea de antigeno e anticorpo em circulação, se podia bem comprehender, sem admittir que por isso necessariamente a precipitação se effectuasse.

Comtudo, por outro lado, foram muito discordantes os resultados obtidos por grande numero de autores que se preocuparam em demonstrar a especificidade de precipitinas para determinadas proteinas.

Assim, LEBLANC, immunizando coelhos com albumina e pseudo-globulina de sôro de bôi obteve precipitinas que só precipitavam com os antigenos que tinham servido para a immunização. OBERMAYER e PICK, ROSTOSKI, UMBER, LANDSTEINER e CALVO, acham que pelo contrario uma tal especificidade não se verifica. OBERMAYER e PICK empregaram como antigeno nas suas experiencias differentes substancias extrahidas da clara do ôvo: quatro globulinas chimicamente distinctas, uma albumina cris-

tallizavel e outra não cristallizavel. LANDSTEINER e CALVO immunizaram animaes com differentes fracções de sôro de cavallo obtidas pelos processos usuaes de precipitação. UMBER usou albuminoides da clara do ôvo, uma albumina e uma globulina sob fórmas cristallinas. ASCOLI, poude entretanto por meio da absorpção electiva demonstrar que os immunisôros obtidos pelo tratamento de coelhos com as differentes fracções de sôro de cavallo não eram inteiramente identicas.

A propriedade precipitante é totalmente retirada do sôro se elle fôr tratado pelo antigeno correspondente em dóse sufficiente, ao passo que uma outra fracção de sôro de cavallo, dá uma reacção parcial que permitte posteriormente ainda uma precipitação com a reacção que serviu para immunizar o animal. Numerosos autores se preocuparam ainda com esta face do problema, mas os seus resultados não forneceram uma conclusão mais segura que a dos precedentemente indicados. (BERTARELLI, SACCONAGHI. FRANCESCHELLI.) Pensa UHLENHUT que os processos chimicos de preparação e purificação destes antigenos não são sufficientemente perfeitos para fazer pender a opinião neste ou naquelle sentido, porque a reacção de precipitação é muito mais sensivel do que as que podem dar os reagentes chimicos.

E' esta tambem a maneira de ver da maioria dos autores que contribuiram para estes trabalhos. Recentemente autores ha que pretendem explicar a existencia lado a lado de precipitina e precipitinogeno tomando como base a analogia que este phenomeno apresenta com certos equilibrios coloidaes, mantidos por coloides protectores (ZINSSER, YOUNG). Entre numerosos argumentos, um dos que mais convence é o da precipitação lenta, expontanea «autoprecipitação» que se dá nos sôros precipitantes conservados. E' sabido, não obstante, que a mesma precipitação se dá nos sôros normaes guardados nas melhores condições (Uhlenhut). Este ponto de vista, aliaz, foi combatido por WEIL que voltou á velha concepção de V. DUNGERN, depois de numerosas precipitações executadas com albumina cristallisada de ovo. WEIL (§) afirma que se uma proteina pura como albumina de ôvo fôr usada para immunização, nunca antigeno e anticorpo se encontram em circulação conjuntamente. (§) WEIL citado por ZINSSER. Infection and resistence 1918 pag. 271.

A questão, porém não terminou ainda e espera uma solução definitiva.

Os resultados que obtivemos nos nossos ensaios não parecem ser totalmente desprovidos de interesse. Pensamos que a prevalecer a opinião de V. DUNGERN, experimentalmente, um caminho poderia ainda ser explorado, e era aquelle que levando em conta o periodo de incubação das precipitinas para as differentes fracções do sôro antigenico usado, pudesse indicar que realmente cada fracção determinaria um periodo de incubação differente e proximamente especifico na mesma especie animal.

Comquanto sejam conhecidas grandes oscillações individuaes dentro de uma mesma especie na capacidade de produção dos anticorpos que nos interessam, iniciamos o estudo de uma serie de animaes resolvidos a questão sob este ponto de vista. Como as injecções multiplas encurtam o periodo de incubação ao mesmo tempo que reduzem o tempo de permanencia do precipitinogeno na circulação, só aproveitamos para as nossas series os animaes que nos forneciam precipitinas submettidos a uma só inoculação. Como é provavel tambem que os differentes precipitinogenos não se conservem nos sôros de animaes da mesma especie, na mesma proporção, empregamos sempre como antigeno uma partida de sôro de cavallo, proveniente de uma só sangria.

1ª Serie de experiencias:

Quatro coelhos de peso proximamente egual, foram inoculados, com 10 cc. de sôro normal de cavallo e sangrados no 4º, 5º, 9º, 16º, dia depois da inoculação. Separados os quatro sôros, foram dosados no seu valor precipitante, não só por diluição do precipitinogeno, como por diluição do proprio sôro precipitante em presença de uma diluição a 1/100 de precipitinogeno.

Sôro de 4 dias éra precipitante até 1/1.000 e precipitava diluido a 1/2.

Sôro de 5 dias éra precipitante até 1/10.000 e precipitava diluido a 1/2.

Sôro de 9 dias éra precipitante até 1/10.000 e precipitava diluido a 1/8.

Sôro de 16 dias éra precipitante até 1/10.000 e precipitava diluido a 1/32.

Os sôros precipitantes eram usados em natureza na dóse de 0,5, e precipitinogeno em dóses decrescentes de metade até 1/64.

1ª Serie sôro prec. 16 dias 0,5+0,5 cc. de 1/2, 1/4, 1/8 etc. 1/64. Sôro de 4 dias anel até 1/64.

2ª	Serie	sôro	prec.	16	dias	0,5+0,5	cc.	de	1/2,	1/4,	1/8	etc.	1/64.	Sôro	de	5	dias	1/64.
3ª	«	«	«	«	«	0,5—0,5	«	«	«	«	«	«	«	«	«	9	«	1/32.
4ª	«	«	«	9	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	4	«	1/16.
5ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	5	«	1/16.
6ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	16	«	1/2.♂
7ª	«	«	«	5	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	4	«	1/2.♀
8ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	9	«	1/4.♂
9ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	»	16	«	1/16.♂
10ª	«	«	«	4	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	5	«	0
11ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	9	«	1/4. ♂
12ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	16	«	1/16.♂

2ª Serie de experiencias:

Tres coelhos de peso proximamente egual, foram inoculados com 15 c.c. de sôro normal de cavallo subcutaneamente e sangrados no 4º, 10º e 16º dia

Sôro de 16 dias éra precipitante até 1/10.000 e precipitava diluido até 1/32.

Sôro de 10 dias éra precipitante até 1/10.000 e precipitava diluido até 1/16. Com 1/100 de antigeno.

Sôro de 4 dias éra precipitante até ((?) e diluido não dava precipitado.

O sôro de 10 dias foi conservado no frigorifico por mais de seis dias, antes da execução das series abaixo.

1ª	Serie:	Sôro	prec.	de	16	dias	0,5—0,5	de	1/2.	etc.	1/128	sôro	de	4	dias	1/128		
2ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	10	«	1/64		
3ª	«	0	«	«	10	«	«	«	«	«	«	«	«	4	«	1/64		
4ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	16	«	1/16	♂	
5ª	«	«	«	»	4	«	«	«	«	«	«	«	«	10	«	1/16	♂	
6ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	16	«	1/32	♂	

3ª Serie de experiencias:

Quatro coelhos foram inoculados com 15 c.c. de sôro normal de cavallo e respectivamente sangrados no 6º, 10º, 16º e 21º dias.

Sôro de 21 dias precipitado até 1/10.000 e diluido precipitado até 1/32.

Sôro de 16 dias precipitado até 1/10.000 e diluido precipitado até 1/32. Com 1/100 de antigeno.

Sôro de 10 dias precipitado até 1/10.000 e diluido precipitado até 1/16.

Sôro de 6 dias precipitado até 1/1.000 e diluido precipitado até 1/4.

O precipitado com sôro de 10 dias no tubo a 1/100 de precipitinogeno, foi ligeiramente menor que com sôro de 16 e sensivelmente mais abundante que com sôro de 21 dias.

1ª	Serie	sôro	prec.	de	21	dias	0,5—0,5	sôro	de	16	dias	(diluições	até	1/256)	1/64			
2ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	sôro	de	10	dias	1/118		
3ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	6	«	1/256		
4ª	«	«	«	«	16	«	«	«	«	«	«	«	«	21	«	1/8	♂	
5ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	»	10	«	1/64		
6ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	6	«	1/256		
7ª	«	«	«	«	10	«	»	«	«	«	«	«	«	21	«	1/16	♂	
8ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	»	16	«	1/16	♂	
9ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	6	«	1/128		
10ª	«	«	«	«	6	«	«	«	«	«	«	«	«	21	«	1/32	♂	
11ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	16	«	1/32	♂	
12ª	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	«	10	«	1/16	♂	

Destes resultados infere-se que:

a) O precipitinogeno em circulação no sôro dos animaes tratados, só é demonstravel, por sôros precipitantes com data da sangria posterior.

b) que quando se toma nas mistura de dois sôros precipitantes, para sôro precipitante o que contem precipitinas mais recentes, a precipitação nunca excede o tubo, em que diluido o sôro de data posterior é capaz de precipitar sôro de cavallo a 1/00. (Nas tabellas acima as flexas indicam o sentido em que se tende a dar a precipitação que se difunde pelo sôro que na reação age como precipitante, todas as vezes que se respeitem certas precauções de technica e que o precipitado não seja muito espesso o que é quasi sempre o caso.

c) que a precipitação de precipitinogeno num mesmo sôro é demonstravel até uma diluição tanto maior quanto mais longo fôr o intervallo de sangria entre os dois sôros, (dentro de certos limites).

4ª Serie de experiencias:

Um coelho inoculado com 15 c.c. de sôro normal de cavallo foi sangrado ao fim de 26 dias e forneceu sôro precipitante até 1/1000.000.

Um coelho (sôro nº 1) foi inoculado com 5 c.c. de sôro normal de cavallo, e sangrado seis dias depois o seu sôro era precipitante até 1/1000.

Sôro nº. 1 0,5—0,5 de 1/2 etc. 1/256 sôro nº 2 não precipitado.

Sôro nº 2 0,5—0,5 de 1/2 etc. 1/256 sôro nº 1 não precipitado.

Sôro de 26 dias 0,5—0,5 de 1/2 etc. 1/256 sôro nº 1 precipitado até 1/64.

Sôro de 26 dias 0,5—0,5 de 1/2 etc. 1/256 sôro nº 2 precipitado até 1/256.

Um coelho foi inoculado em:

12/2/920 com 15 c. c. de sôro normal de cavallo.

14/2/920 com 10 c. c. de sôro normal de cavallo.

16/2/920 com 10 c. c. de sôro normal de cavallo.

e sangrado em 20/2/920, isto é 8 dias depois da primeira injecção.

O sôro éra precipitante até 1/100.000.

Um coelho foi inoculado com 15 c.c.

de sôro normal de cavallo e oito dias depois sangrado.

A mistura destes dois sôros, obedecendo ao mesmo criterio dos ensaios anteriores *não deu nenhum precipitado.*

Dois coelhos receberam subcutaneamente 15 c.c. de sôro normal de cavallo 1º e 10º dias depois foram sangrados. Um dos sôros precipitava até 1/1.000, o outro ligeiramente hemolizado não ia além de 1/1.000.

A mistura em series, destes dois sôros *tambem não deu precipitado, mesmo usando os sôros em natureza.*

Assim conclue-se que:

a) Os sôros precipitantes com o mesmo periodo de sangria, embora possuam o mesmo titulo precipitante e grandes differenças na quantidade de precipitinogeno, não dão em geral precipitação quando postos em contacto.

b) Sôros precipitantes com o mesmo tempo de sangria, com titulos precipitantes differentes embora com quantidades proximamente eguaes de precipitinogeno, tambem não deram a formação de anel.

Devemos entretanto accrescentar que algumas vezes posteriormente, obtivemos pela junção de sôros precipitantes com o mesmo tempo de sangria (10º dia, 16º dia) a formação lenta de um anel diffuso, sem duvida nenhuma dependente de um phenomeno de precipitação.

Essas relações eram entretanto muito fracas em comparação com as que obtivemos nas series acima mencionadas com os sôros de datas differentes. Somos levados a crêr por isso que os periodos de incubação das diversas precipitinas na especcie de animaes empregados, são apenas *proximamente* identicos e que o caracter de nitidez que apresentam os nossos ensaios, deriva dos intervallos de tempo aproveitados sufficientemente largos para excederem ás oscillações individuaes.

5ª Serie de experiencias:

Um coelho foi inoculado com 15 c.c. de sôro normal de cavallo e sangrado com 21 dias, deu precipitinas até 1/10.000

Este sôro misturado com o de 16 dias, já usado anteriormente e de titulo precipitante egual a 1/.000.000, não mostrou formação de precipitado em nenhum tubo.

Dois coelhos de peso proximamente egual foram inoculados com 15 c.c. de sôro normal de cavallo e quatro dias depois com mais 10 c.c. Sete dias depois da ultima inoculação um dos coelhos (nº 1) foi sangrado em 50 c.c. de sangue o outro (nº 2) só em 10 c.c.

O poder dos dois sôros em precipitinas não iam além de 1/10.000 e a mistura dos dois sôros em qualquer proporção não dava occasião ao apparecimento do anel. Cinco dias mais tarde, foram estes animaes novamente sangrados. O sôro nº 1 precipitava só até 1/1.000 o nº 2 ainda até 1/10.000.

1ª Ser. sôro nº 1 (2ª sangr.) 0,5—0,5 1/2 etc. sôro nº 1 da 1ª sang. 0.

2ª Ser. sôro nº 1 (2ª sangr.) 0,5—0,5 1/2 etc. sôro nº 2 da 1ª sang. 0.

3ª Ser. sôro nº 2 (2ª sangr..) 0,5—0,5 1/2 etc. sôro nº 1 da 1ª sang.. 1/16.

4ª Ser. sôro nº 2 (2ª sangr..) 0,5—0,5 1/2 etc. sôro nº 2 da 1ª sang. 1/8

Destes resultados pode-se talvez concluir que:

O precipitinogeno já não se conserva em circulação no coelho em quantidades demonstraveis, quando se injectam 15 c.c. de sôro de cavallo, no 21 dia.

Quando se sangra um animal vaccinado, duas vezes, com um intervallo de tempo regular, o sôro de data posterior. posto que não tenha aumentado o titulo precipitante, adquire a propriedade de demonstrar o precipitinogeno do de data de sangria anterior. Se porém, a quantidade de sangue tirado na 1ª sangria fôr sufficientemente forte, o sôro desse outro

animal não só baixa visivelmente de titulo, mas não adquire a propriedade de precipitar o de data anterior. Parece portanto, que neste caso a sangria não só retira as precipitinas já existentes em grande parte, mas tambem retira o precipinogeno, em circulação no sangue, precipitinogeno que se deve por isso considerar como necessario para a formação das precipitinas que precitam o precipitinogeno da 1ª sangria. *Tudo se passa pois, no processo de vaccinação, como se as diversas fracções do sôro fossem retiradas da circulação á medida que vão aparecendo no sangue os anticorpos, que as precipitam, anticorpos que se vão sommando em qualidade até o dia 21º, ou mesmo talvez até mais tarde.*

Para o assumpto de que nos vimos ocupando, outro facto entretanto, nos poderia servir para orientação. E' sabido que muitos anticorpos funcionam, se não como precipitinogenos, como substancias extremamente proximas destes corpos. (KRAUS e PRIBRAM). DEHNE e HAMBURGER verificaram em 1904 que os sôros precipitantes para cavallo (coelho), eram capazes de fazer cair juntamente com o precipitado, a antitoxina tetanica dos sôros de cavallos immunisados activamente, contra essa toxina. Que essa reação era absolutamente especifica e não corria por conta de um phenomeno physico ficou exuberantemente provado além do desses autores pelos trabalhos de KRAUS e PRIBRAM e de V. EISLER e TSURU'.

Começamos por determinar até que intervallo de tempo, a antoxina tetanica podia ser encontrada na circulação de coelhos inoculados em quantidade sufficiente, e os nossos resultados aproximam-se dos autores que estudaram esse ponto. (DENNE e HAMBURGER TIZZONI, etc.)

Tres coelhos de tamanho regular, foram inoculados em intervallos de cinco dias, com 3, 5, 7, c.c. de sôro antitetanico representando um total de 15.000 U. A. O sôro dos coelhos tinha-se mostrado previamente indifferente em face da antitoxina como cuidadosamente verificamos.

Ao fim de 13 dias depois da ultima inoculação, restavam-nos dois animaes que sangrados forneceram sôro para exame.

Reacção das precipitinas presente.

1ª Cobaia—1/2.000 s. ant.—2 cc. ag. fis. Test. dóse. Fal. tet. no 5º dia.

2ª Cobaia—1/1.000 s. ant.—2 cc. ag. fis. Test. dóse. Sobreviveu.

3ª Cobaia—1/2.000 s. ant.—2 cc. s. coelho nº 1 Test. dóse. Fal. tet. no 8º dia.

4ª Cobaia—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. coelho nº 1 Test. dóse. Sobreviveu.

5ª Cobaia—1/2.000 s. ant.—2 cc. s. coelho nº 2 Tes. dóse. Fal. tet. no 7º dia.

6ª Cobaia—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. coelho nº 2 Tes. dóse. Sobreviveu.

7ª Cobaia—2 cc. sôro coelho nº 1—0,0025 tox. tet. Sobreviveu.

8ª Cobaia—2 cc. sôro coelho nº 2—0,0025 tox. tet. Sobreviveu.

9ª Cobaia — 0,0005 tox. tet. Falleceu do 4º para o 5º dia.

Os sôros dos coelhos foram collocados com as diluições de sôro antitoxico, durante uma hora na estufa, ao fim da qual se juntava a testemunha dóse da toxina que se deixava mais uma hora á temperatura ambiente. A antitoxina usada foi sempre a mesma e as dosagens foram sempre executadas segundo o metodo de ROSENAU ANDERSON.

Vê-se assim que á distancia de treze dias da ultima inoculação, existia ainda em quantidade muito apreciavel antitoxina de cavallo em circulação, embora existissem já precipitinas em abundancia.

Oito dias mais tarde, por nos ter fallecido um dos animaes, foi sangrado outra vez o restante e examinado o sôro.

Reacção das precipitinas presente.

1ª Cobaya—1/2.000 s. ant.—2 cc. ag.

fis. Test. dóse. Tet. local no 3º dia, fal. 4º

2ª Cobaya—1/2.000 s. ant.—2 cc. ag. fis. Test. dóse. Tet. dóse. Bôa saude. Sobreviveu.

3ª Cobaya—1/2.000 s. ant,—2 cc. ag. sôro coelho nº 1—Test. dóse. Tet. diaphragmatico. Falleceu no 2º dia á tarde.

4ª Cobaya—1/1.000 s. ant. — 2 cc. sôro coelho nº 1—Test. dóse. Tet. local nitido no 1º dia. Amanheceu morta no 2º.

Como se vê dessa vez a antitoxina foi inteiramente subtrahida do sôro antitoxico. Pudemos observar nitidamente que a inactivação a 56º, meia hora, não altera em nada o poder inactivante para a antitoxina, e assim tambem como DENNE e HAMBURGER, conseguimos facilmente regenerar a propriedade antitoxica dissolvendo o precipitado em excesso de precipitinogeno (sôro normal de cavallo). Parece que a não se tratar aqui de um papel precipitinogenico da antitoxina, a interpretação do phenomeno fica muito obscura, visto que uma vez ligada á toxina correspondente como pudemos assegurar-nos, o sôro precipitante é incapaz de libertar a toxina do seu anticorpo:

1ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. Sôro precipitado.—Test. dóse.

2ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—Test dóse —2 cc. sôro precipitado.

3ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. ag. physiol—Test. dóse.

Na 2ª cobaya a toxina depois de uma hora de contacto com a antitoxina, foi deixada mais uma hora na estufa com sôro precipitante.

A 1ª cobaya morreu de tetano em dois dias. As outras duas sobreviveram quarenta e um dias depois da ultima inoculação, o sôro deste mesmo animal, outra vez sangrado, conservava ainda nitidamente a propriedade de inactivar a antitoxina.

Cinco coelhos foram inoculados subcutaneamente com 15 c.c. de sôro normal de cavallo e sangrado no 6º, 10º, 16º, 21º e 26º dias.

(Sôros empregados a pags. 111).

1ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. pre. 6º dia—Test. dóse.

2ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. pre. 10º dia—Test. dóse.

3ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. pre. 16º dia—Test. dóse.

4ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. pre. 21º dia—Test. dóse.

5ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. pre. 26º dia—Test. dóse.

6ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. ag. physiol. dia—Test. dóse.

No segundo dia depois da inoculação falleceram de tetano a 3ª, 4ª e 5ª cobayas; as outras tres permaneceram em bom estado sempre. D'aqui resulta que as precipitinas capazes de arrastar a antitoxina só apparecem na visinhança do 16º dia depois da inoculação, independentemente do titulo precipitante do sôro ou da quantidade do precipitado que se forme.

Um coelho recebeu tres inoculações subcutaneas de sôro normal de cavallo na seguinte ordem:

Em 10/1/1920—15 c. c.
Em 12/1/1920—10 c. c.
Em 15/1/1920—10 c. c.

Sangrado em 21 deu precipitinas até 1/100.000 com precipitado muito abundante até a diluição de 1/1.000 de precipitinogeno.

Em 23/1/1920.

1ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. pre. Test. dóse.

2ª Cobaya—1/2.000 s. ant.—2 cc. s. pre. Tes. dóse.

3ª Cobaya—1/1.000 s. ant.—2 cc. s. ag. fis. Tes. dóse.

4ª Cobaya—1/2.000 s. ant.—2 cc. ag. fis. Tes. dóse.

A quarta cobaya morreu em 60 horas; a segunda em 72 horas. As duas sobreviveram.

Um coelho vaccinado com sôro concentrado antitetanico (estalão americano), por meio de tres inoculações espaçadas de cinco em cinco dias, foi sangrado 21 dias, depois da ultima injecção e o seu sôro precipitava a antitoxina tão bem quanto os outros anteriormente usados.

Com a antitoxina diphterica nunca pudemos, porem, apezar de todos os esforços verificar a desapparição da antitoxina pelo emprego de sôros precipitantes, bem que tivessemos usado sôros antitoxicos da proveniencia differente e de titulo sufficientemente alto para os podermos empregar nas dosagens em diluições eguaes as que eram usadas para a antitoxina tetanica; e bem que todos os sôros precipitantes tivessem sido previamente verificados activos para a antitoxina tetanicas.

Cobayas de 250 grs.

1ª Cobaya—1/700 s. ant. dift. 2 cc. s. prec. 21 dias—Test. dóse.

2ª Cobaya—1/1.000 s. ant. dift. 2 cc. s. prec. 21 dias—Test dóse.

3ª Cobaya—1/700 s. ant. dift. 2 cc. ag. physiol.—Test. dóse.

4ª Cobaya—1/1.000 s. ant. dift. 2 cc. ag. physiol.—Test. dóse.

Destas cobayas a ultima morreu do quarto para o quinto dia, assim como a segunda cinco horas depois, ambas com congestão das capsulas suprarenaes, e infiltrações hemhorragicas do ponto de inoculação.

Cobayas de 250 grs. Sôro precipitante de 36 dias.

1ª Cobaya—0,1 sôro ant. estalão—2 cc. s. prec.—0,7 toxina (tes. dóse)

2ª Cobaya—0,1 sôro ant. estalão—3 cc. s. prec.—0,7 toxina (tes.dóse).

3ª Cobaya—0,1 sôro ant. estalão—2 cc. ag. physiol.—0,1 toxina (test. dóse).

Estas cobayas morreram com intervallo de horas do quarto para o quinto dia.

Sôro precipitante de 30 dias.

1º Pombo—1/800 s. ant.—dift.—2 cc. s. prec.—test. dóse.

2º Pombo—1/1.000 s. ant.—dift.—2 cc. s. prec.—test. dóse.

3º Pombo—1/800 s. ant.—dift.—2 cc. ag. physiol.—test. dóse.

4º Pombo—1/1.000 s. ant,—dift.—2 cc. ag. physiol.—test. dóse.

Todos os animaes sobreviveram excepto o ultimo que falleceu no 6º dia

Não obstante a nossa diligencia em obter as melhores condições para se encontrarem resultados positivos, foi-nos sempre impossivel retirar a antitoxina diphterica por meio de sôro coelho-anticavallo.

O resultado desses ensaios explica porem porque razão discordam inteiramente das de DEHNE e HAMBURGER as experiencias de KRAUS e PRIBRAM, sobre a precipitação de antitoxinas em «vivo» é que emquanto os primeiros trabalhavam com antitoxina tetanica os outros serviam-se para suas indagações de antitoxica diphterica. As conclusões de KRAUS e PRIBRAM sobre esse ponto, não têm por isso um valor inquestionavel.

Mas não só com antitoxina diphterica deixamos de ter resultados positivos, os ensaios com antitoxina botropica levaram-no a resultados analogos. Estes ensaios entretanto são mais passiveis de critica visto que para as dosagens do sôro não se podem fazer grandes diluições do precipitinogeno, condição segundo KRAUS e PRIBRAM essencial para que se obtenham resultados seguros. Para obviar esse inconveniente, empregamos quantidades excessivas de sôro precipitante que tinha sido como nos casos de diphteria previamente provado com antitoxina tetanica.

O sôro antitoxico empregado, provinha de I. S. B. de S. Paulo e trazia como indicação de dosagem, 1 c. c. de sôro para 1,6 de veneno de LACHESIS

LANCEOLATUS. O nosso veneno provinha de Bello Horizonte. Todas as dosagens foram feitas pelo processo de VITAL BRASIL. Antes de juntar o veneno, deixavam-se os tubos com sôro antitoxico e sôro precipitante, 2 horas na estufa a 37°. Depois da adição do veneno demoravam ainda uma hora a 37° antes da injecção que era feita na veia axillar do pombo.

1° Pombo—1 cc. sôro botr. 3 cc. s. prec.—1,6 venen. L. lanceolatus.

2° Pombo—1 cc. sôro botr. 2 cc. s. sprec.—1,6 venen. L. lanceolatus.

3° Pombo—1 cc. sôro botr. 1 cc. s. prec.—1,6 venen. L. lanceolatus.

4° Pombo—1 cc. sôro botr. 2 cc. ag. dis.—1,6 venen. L. lanceolatus.

5° Pombo—1,6 de veneno de L. lanceolatus.

Todos os pombos se conservaram em bom estado depois da inoculação e sobreviveram, excepto o ultimo que teve morte immediata.

2ª Serie:

1° Pombo—1/10. de sôro botr. 2 cc. s. prec. 0,16 ven. L. lanceolatus.

2° Pombo—1/10 de sôro botr. 1,5 s. prec. 0,16 ven. L. lanceolatus.

3° Pombo—1/10 de sôro botr. 1 cc. s. prec. 0,16 ven. L. lanceolatus.

4° Pombo—1/10 de sôro botr. 2 cc. ag. fis. 0,16 ven. L. lanceolatus

5° Pombo—1,16 veneno de L. lanceolatus.

Todos os animaes resistiram sem alteração do estado de saude, com excepção do ultimo que morreu antes de cinco minutos.

A carencia do sôro no mercado impediu-nos de executar outros ensaios e de determinar dosagens com sôro anticrotalico. O sôro precipitante aqui empregado era de 24 dias.

Mais interessantes ainda foram os resultados achados para antitoxina tetanica, com sôro precipitante humano anticavallo.

A. S. recebeu em dois dias 300 c. c. de sôro anti-pestoso em tres injeções, duas na veia e uma debaixo da péle. Ultima injeção em 11-11-1919.

Em 19-11-1919, foi sangrado e o sôro demonstrou:

Presença de precipitinogeno até a diluição de 1/10.

Presença de precipitinas até á uma diluição superior a 1/1000.

Ausencia de precipitina para a antitoxina tetanica.

Em 26-11-1919, outra vez sangrado o sôro mostrou:

Presença de precipitinogeno até 1/10.

Presença de precipitinas até 1/1000.

Ausencia completa de precipitinas para a antitoxina tetanica.

Em 24-12-1919, pela ultima vez sangrado a analise do sôro demonstrou:

Presença de precipitinogeno até 1/2.

Presença de precipitinas até 1/10.000.

Ausencia de precipitina para a antitoxina tetanica.

C. R. Recebeu 320 c.c. de sôro antipestoso em tres inoculações endovenosas, a ultima datando de 11-11-1919.

Em 22-11-1919, sangrado o sôro examinado mostrou:

Presença de precipitinogeno até 1/10.

Presença de precipitinas até 1/1000.

Ausencia de precipitina para a antitoxina tetanica.

Em 5-12-1919:

Presença de precipitinogeno até 1/2.

Presença de precipitinas até 1/1000.

Ausencia de qualquer acção sobre a antitoxina tetanica.

Em 29-12-1919:

Ausencia de precipitinogeno.

Presença de precipitinas até 1/10.000.

Ausencia de quaquer efeito nocivo sobre a antitoxina tetanica. O precipitinogeno foi pesquizado com sôro precipitante de coelho para cavallo, de 17 dias, As dosagens da antitoxina foram execu-

tadas tão proximo do titulo antitoxico do sôro, que se obteve nas cobayas tetano local nitido.

Posteriormente tivemos ainda ocasião de examinar mais tres individuos, mas eximimo-nos de mencionar detalhadamente os resultados por que não diferem nada dos mencionados. Em nenhum caso pudemos obter um resultado que pudesse ser considerado duvidoso.

Demonstra isso portante que o precipitinogenos para determinadas especies animaes, podem deixar de se-lo para outras, bem que essas outras possam responder com precipitinas a outras fracções de sôro empregado.

Estudando no coelho, com antitoxina disenterica, obtivemos resultados completamente diferentes.

Technica:

Collocados 0,1 de sôro anti-Shiga concentrado 6 vezes, durante duas horas a 37º em presença de sôro precipitante de 16 dias, de 4 dias, e de sôro normal de coelho. Inoculada a mistura na veia marginal da orelha, depois de centrifugação e decantação, deixou-se passar meia hora e então na veia da orelha oposta, inocularam-se 0,4 de extracto Shiga.

1º Coelho—1 c. c. de sôro de 16 dias —0,1 Shiga—0,4 ext. Shiga.

2º Coelho—1 c. c. de sôro de 4 dias —0,1 Shiga—0,4 ext. Shiga.

3º Coelho—1 c. c. de sôro normal de coelho—0,1 S. Shiga—0,4 ext. Shiga.

4º Coelho—0,1 S. Shiga—0,4 ext. Shiga.

O primeiro coelho morreu em tres dias com paralisia generalizada, o segundo que desde o segundo dia se mostrou quasi totalmente paralitico resistiu até o 9º dia. Os outros dois animaes não mostraram alteração do estado de saude.

A repetição deste ensaio, levou-nos a resultados analogos. O 10º coelho morreu no 3º dia, o segundo faleceu no 7º com paralisias iniciaes no 2º. O sôro precipitante do 4º dia aqui empregado tinha-se mostrado inteiramente incapaz de retirar a antitoxina tetanica do sôro antitoxico. Estendendo as nossas investigações ás aglutininas, empregamos não só a tecnica de KRAUS e PRIBRAM, partindo para as diluições de precipitações mães, mas tambem usando para cada diluição a juntar germens, 0,5 de sôro precipitante.

Technica:

A cada tubo contendo, 0,5 de sôro precipitante foram juntados 0,5 de diluições a 1/25, 1/125, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000 de sôro agglutinante disenterico e depois de duas horas na estufa a 37º, retiraram-se os precipitados formados por centrifugação e decantação. Addicionado 1 c.c. de uma emulsão de b. Shiga em cada tubo, levou-se a mistura á estufa por mais duas horas e procedeu-se a leitura.

Fizemos varias series para as precipitinas que possuimos, 4, 10, 16, 21 e 26 dias.

A aglutinação deu positiva até 1/16.000 (ultimo tubo) na serie em que se trabalhava com precipitinas do 4º dia e completamente negativa em todas as outras, desde o primeiro tubo, bem que a diluição do sôro empregado, não excedesse 1/25.

Uma serie testemunha, demonstrou que o sôro agglutinante até 1/500.

A agglutinação até 1/16000 na serie das precipitinas do 4º dia, corria por conta do sôro de coelho empregado.

Para as agglutininas typhicas o sôro empregado era agglutinante para a amostra que usamos até 1/10.000.

Como precedentemente para os bacilos disentericos a agglutinação foi negativa com precipitinas do 10º, 16º, 21º e 26º dias e positiva na do quarto dia. Além da technica empregada acima, fizemos series de diluições de sôro agglutinante a 1/500 e 1/1000 em 0,5 c. c., que

juntamos a 0,5 dos sôros precipitantes. Depois da demora indicada na estufa, e de retirado o precipitado, partimos do liquido, sobrenadante para diluições que addicionadas á emulsão de B. typhicos nos permittissem titulos a 1/1000, 1/2000, 1/3000, 1/8000, 1/16.000, 1/32.000, 1/64.000.

A leitura permittiu ainda aqui com as precipitinas do quarto dia, agglutinação positiva até 1/32.000 que provavelmente provinha do sôro de coelho.

Estes dados indicam que os differentes anticorpos se encontram em circulação fazendo parte de precipitinogenos differentes, que se podem em parte distinguir pela demora por que no organismo do coelho se processa a produção de precipitinas. Assim a antitoxina disenteterica, já é parcialmente precipitada por precipitinas do quarto dia, ao passo que as agglutininas para o mesmo germen só são precipitadas por sôros do 10º dia e que a antitoxina tetanica só ainda com sôros mais tardios é retirada do sôro antitoxico (16º dia).

Para as duas agglutininas que investigamos a precipitação começava em sôro da mesma data, emquanto para a antitoxina diphterica e botropica, foi-nos sempre impossivel obter resultados positivos, apesar de todos os cuidados com que se examinou a questão. Assim chegamos á conclusão que os diversos anticorpos se encontram presos a precipitinogenos differentes, alguns dos quaes se podem nitidamente differençar, e outros em que essa differenciação é prejudicada pelo facto de provocarem no coelho um periodo de inoculação proximamente egual. KRAUS e PRIBRAM, por algumas precipitinas retirarem agglutininas para um mesmo germen de determinados sôros, em certa quantidade e necessitarem de muito mais sôro precipitante para produzirem o mesmo effeito em agglutininas de outros animaes da mesma especie, acham até que o mesmo anticorpo possa estar ligado a precipitinogenos differentes nesses animaes (cavallos). Essa conclusão nos parece excessiva e cremos que se trate aí antes de uma relação quantitativa entre o precipitinogeno a que está ligada a agglutinina e a parte desse mesmo precipitinogeno sem grupos agglutinantes, que circula certamente ao lado, e que é precipitada pela mesma especie de precipitinas.

Como estava imediatamente indicado, depois disso, encetamos o estudo das relações entre precipitinas e outros anticorpos (agglutininas e antitoxinas).

Um coelho marcado de acido picrico, foi inoculado em:
24—1—1920—com 10 c. c. de uma emulsão de bacillos de mórmo mortos a 70º
28—1—920—durante duas horas e simultaneamente com 10 c. c. de sôro normal
2—2—920—de cavallo.

Sangrado em 9—2—920, forneceu sôro precipitante até 1/100.000 e agglutinante até 1/1.600.

Technica:

A 0,5 de sôro de coelho foram adicionadas quantidades decrescentes de sôro de cavallo a 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 e 1/100.000. Depois de duas horas na estufa a 37º e 24 horas no frigorifico, retiraram-se os precipitados formados por centrifugação e decantação e diluiram-se os liquidos sobrenadantes de modo a se obterem diluições de sôro a 1/200, 1/400, etc. até 1/6.400, depois de juntar a todos os tubos 1 c. c. de uma emulsão de germens. A tubos testemunhas submettidos a tratamento identico substitui-se o sôro precipitinogenico de cavallo por agua physiologica. A leitura foi feita com 24 horas de estufa a 37º. Em todos os tubos e mesmo no primeiro em que o precipitado foi muito abundante o liquido sobrenadante agglutinou os germens até 1/1600. como nos tubos testemunhas.

Conclue-se d'aqui, que as precipitinas não estão ligadas no sôro á mesma fracção a que pertencem as agglutininas e que a retirada dessa fracção não dá ás agglutininas, nem maior affinidade nem

maior actividade para os germens especificos.

Com as antitoxinas fomos levado a resultados identicos:

Um cavallo foi inoculado em:
17—9—919 com 100 cc. de toxoides tetanicos.
25—9—919 com 250 cc. de toxoides tetanicos.
6—10—919 com 250 cc. de toxoides tetanicos.
17—10—919 com 300 cc. de toxoides tetanicos.
29—10—919 com 400 cc. de toxoides tetanicos.
9—11—919 com 400 cc. de toxoides tetanicos.
19—11—919 com 450 cc. de toxoides tetanicos.
27—11—919 com 100 cc. de toxina e formol (3 dias de contacto).
10—12—919 com 150 cc. de toxina.
18—12—919 com 200 cc. de toxina.
19—12—919 com 500 cc. de sôro normal de carneiro.
30—12—919 com 250 cc. de toxina.
31—12—919 com 250 cc. de sôro normal de carneiro.

Sangrado em 9—1—920, forneceu sôro antitoxico com 500 u. a. por centimetro cubico e precipitante até 1/100.

Em 15—1—920, a 0,5 de sôro desse cavallo, foi juntado sôro de carneiro diluido a 1/10. Depois de duas horas a 37° e 24 horas no frigorifico foi centrifugado e o liquido proveniente da decantação foi de tal forma diluido que o sôro antitoxico ficou a 1/1000, 1/2000 e 1/5000. Testemunhas acompanharam o tratamento com agua physiologica em vez de sôro de carneiro. A cada diluição juntou-se a test. dóse de toxina, e decorrida uma hora foram feitas as inoculações em cobayas de 350 grs.

1°—cobaya—1/1000 s. ant. precipitado — 2 cc. ag. physiol.—Test. — dóse.
2°—cobaya—1/2000 s. ant. precipitado — 2 cc. ag. physiol.—Test. — dóse.
3°—cobaya—1/500 s. ant. precipitado — 2 cc. ag. physiol.—Test. — dóse.
4°—cobaya—1/1.000 s. ant. não prec. — 2 cc. ag. physiol. — Test.—dóse.
5°—cobaya—1/2.000 s. ant. não prec. — 2 cc. ag. physiol. — Test.—dóse.
6°—cobaya—1/5.000 s. ant. não prec. — 2 cc. ag. physiol. — Test.—dóse.

A terceira e a sexta cobayas falleceram de tetano em 20—1—920; as outras quatro sobreviveram.

Um bóde foi inoculado em:
28—10—919 com 50 cc. de toxoides
7—11—919 com 100 cc. de toxoides
17—11—919 com 100cc. de toxoides
27—11—919 com 150 cc. de toxoides
10—12—919 com 150 cc. de toxoides
20—12—919 com 20 cc. de toxina
30—12—920 com 40 cc. de toxina
9—1—920 com 50 cc. de toxina
19—1—920 com 50 cc. de toxina
20—1—920 com 100 cc. de sôro normal de cavallo.
29—1—920 com 50 cc. de toxina
30—1—920 com 100 cc. de sôro normal de cavallo.

Em 13—2—920, o animal foi sangrado e o sôro dava 50 u. a. por centimetro cubico e era precipitante até 1/1000.

A technica aqui empregada foi exactamente egual á precedente, o sôro foi precipitado por uma diluição a 1/10, tubo em que o precipitado foi mais abundante.

1° cobaya—1/500 s. ant. precipitado—2 cc. de ag. physiol.—Test.—dóse.
2° cobaya—1/1.000 s. ant. precipitado—2 cc. de ag. physiol.—Test.—dóse.
3° cobaya—1/500 s. ant. não prec.—2 cc. de ag. physiol.—Test.—dóse.
4° cobaya—1/1.000 s. ant. não prec.—2 cc. de ag. physiol.—Test.—dóse.

A segunda e a quarta cobayas falleceram de tetano durante o curso do segundo dia, a terceira durante a tarde do quarto dia e a primeira appareceu morta na manhã do quinto dia.

Vê-se pois tambem d'aqui que a retirada da fracção do sôro que n'elles constitue a parte precipitante, é inteiramente independente da parte que forma a antitoxina tetanica em animaes de variada especie. A retirada dessa parte não dá ao sôro melhores propriedades antitoxicas nem maior affinidade para a toxina.

Rio, 12 de Março de 1920.

Sobre uma amoeba do genero VAHLKAMPFIA encontrada no homem

por

CESAR PINTO, D. M.

(Com a estampa 7).

O genero *Vahlkampfia* CHATTON et BONNAIRE, 1912 foi estabelecido para as amoebas de vida livre conhecidas pelo nome de amoebas *limax* e comprehende rhizopodes com 5—30 micra de comprimento, formação de pseudopodes lobados (lobopodes) geralmente unico e disposto em uma só direção, vacuolo presente ou não, estructura nuclear simples, cariocinese (promitose de NAEGLER) e finalmente cystos uninucleados.

ALEXEIEFF afirma que as *Vahlkampfia* nunca são parasitas e que os seus cystos pódem atravessar o tubo digestivo de diferentes animaes, porém as amoebas só saem dos cystos nas excreções regeitadas.

A afirmação de ALEXEIEFF não tem fundamento diante das observações de CHATTON e BONNAIRE, WHITMORE, HARTMANN, HOGUE e nossas. Os dois primeiros pesquisadores acharam formas vegetativas de *Vahlkampfia* nas fezes do homem; WHITMORE cultivou a *Vahlkampfia whitmorei* HART., em pus de um abcesso do figado e treze vezes em fezes de dizentericos; HOGUE observou exemplares do genero em questão nas ostras.

Em um caso de disenteria com numerosas *Giardia intestinalis (LAMBL)* nas fezes constatamos a *Vahlkampfia macronucleata*, bem como em outro de disenteria amoebiana *(Ent. histolytica Sch.,)*

Genero *Vahlkampfia* CHATTON et BONNAIRE, 1912.

Syn. *Naegleria* ALEXEIEFF, 1912.

Diagnose: «Amoebas de pequeno tamanho, locomovendo-se geralmente por meio de um largo pseudopode lobado; algumas vezes entretanto pódem se formar muitos pseudopodes. Vacuolo pulsatil.

Um só nucleo com cariosoma volumoso, denso e chromophilo pobre em chromatina peripherica (protocaryon),

Divisão nuclear caracterisada pelos corpos polares volumosos, derivados do caryosoma, a placa equatoreal é formada principalente á custa da chromatina peripherica. Cystos uninucleados com corpusculos chromatoides que desaparecem nos cystos antigos. Estado flagelar com dois flagelos.»

F. DOFLEIN coloca as amoebas do genero *Vahlkampfia* em uma familia que chama de *Bistadiidae* DOFLEIN. De accôrdo com as regras de nomenclatura zoologica o nome de uma familia deve ser tirado do genero typo e assim sendo a designação que deverá prevalecer será antes a de *Trimastigamoebidae* porque o genero *Trimastigamoeba* WHITMORE foi creado primeiro.

Diagnose da familia: «Rhizopodes caracterizados por possuirem alternativamente uma phase com flagelo, e outra sem flagelo, neste ultimo estadio os protozoarios têm movimentos amoeboides, com labopodes e nutrem-se conforme a especie de amoeba. Parece que existem formas com um, dois e tres flagelos. Divisão so se conhece em estado de amoeba. As formas são uninucleadas e têm um nucleo com caryosoma vesiculoso. Cystos uninucleados.»

Genero typo: *Trimastigamoeba* WHITMORE.

Vahlkampfia macronucleata PINTO, 1921.
(Est. 7).

Bibliographia; C. PINTO, 1921. *In* Brasil-Medico Anno 35, vol. I N° 18. pp. 222—3.

Comprimento maximo: 14,4 micra; largura 8 micra. A figura 1 da est. 7 representa o maior exemplar encontrado.

Não existe differenciação entre o ectoplasma e o endoplasma, sendo este de constituição alveolar typo BUTSCHLI, não possuindo vacuolo nem inclusões.

O nucleo nos estadios vegetativos chama lógo a attenção pelo grande desenvolvimento, pois occupa a metade da largura do rhizopode tornando-o muito caracteristico, medindo 4 micra de diametro. Não existe membrana nuclear distincta (Est 7 figrs 1—5).

A zona do succo nuclear (Est. 7 fig. 1—5) não possue chromatina, observando-se nitidamente trabeculas de linina que saem do caryosoma e se dirigem para a peripheria do nucleo.

Caryosoma grande e redondo (Est. 7 fig. 1) medindo 3,2 micra de diametro.

A fig. 4 est. 7 mostra o menor exemplar desta *Vahlkampfia* cujo nucleo tambem apresenta grandes dimensões com uma zona do succo nuclear pobre em chromatina.

Formas pre-cysticas (Est. 7 figrs. 6—9) arredondadas com 9 micra de diametro; em uma dellas vê-se (fig. 7 est. 7) o nucleo em divisão.

Habitat: amoeba de vida livre encontrada no homem.

Aos DRS. ALVARO LOBO, COSTA CRUZ e JULIO MUNIZ os nossos agradecimentos pelo material fornecido.

Explicação das figuras.

Todos os desenhos foram feitos de esfregaços de fezes humana fixados pelo sublimado alcool de SCHAUDINN e coloridos pelo methodo classico de HEIDENHAIN.

As figuras 1, 4, 5, 7, 8, e 9 foram desenhadas com camara clara á altura da meza, occular 5 obj. imm. 1/12. Microscopio ZEISS.

As figuras 2 e 3 foram desenhadas com occular 12 compensadora e objectiva de immersão 1/12. A fig. 6 foi desenhada com occular 4 e objectiva de immersão 1/12.

Fig. 1 representa a forma vegetativa notando-se a formação inicial de um pseudopode na parte anterior do rhizopode. Nucleo grande com caryosoma redondo, zona do succo nuclear pobre em chromatina e trabeculas de linina que sahem do caryosoma para a peripheria do nucleo. Ausencia de inclusões e de vacuolo.

Figrs. 2, 3, 4 e 5 formas menores da *Vahlkampfia macronucleata,* na figura 2 nota-se uma depressão do caryosoma.

Figrs. 6, 7, 8 e 9 formas pre-cysticas do protozoario, na figura 7 o nucleo está em divisão.

BIBLIOGRAPHIA.

1. ALEXEIEFF, A. 1912. Sur les caracteres cystologiques et la systematiques des amibes du groupe Limax et des amibes parasites des vertebres. *In* Bull. Soc. Zool. de France. t. 37. N°. 2.

2. ARAGÃO, H. B. 1909. Sobre a *Amoeba diplomitotica* n. sp. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. T. 1. Fac. 1. pp. 33—42. pl. 2.

3. AWERINTZEW, S. VON. 1906. Rhizopodenstudien (Systematische Bemerkungen). *In* Ann. Biol. Lacustre. t. 1. pp. 320.

4. BRUG, S. L. 1921. Die Jodzysten. *In* Archiv. f. Schif. u. Trop. Hig. Bd. 25 N°. 2. pp. 47—58.

5. CASTELLANI and CHALMERS. Manual of Trop. Med. (Third-ed.) pp. 321.

6. CRAIG, C. F. 1908. Studies upon the Amoeboe in the Intestine of Man. *In* Jour. of Inf. Dis. t. 5.

7. CRAIG, C. F. 1914. The classification of Amebas. *In* The Arch. of Int. Med. vol. 13. pp. 737—769.

8. CHATERJEE, G. C. 1920. An atypical amoeba causing dysenterie lesions *(Ent. paradysenterioe* n. sp.) *In* The Philippine Jour. of Sc. vol. 17. n° 4. pp. 385—394. pl. 1—3.

9. CHATTON, E. 1912. Sur quelques genres d'amibes livres et parasite syn. homonymie, impropriété. *In* Bull. Soc. Zool. de France. t. 37 pp. 109—115.

10. CHATTON, E. 1910. Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amoebiens. Faits et theories. *In* Archives de Zool. Exp. vol. 45. n°. 6. pp. 267.

11. CHATTON et BONNAIRE. 1912. Une Amibe limax *(Vahlkampfia* n. gen.) dans l'intestin humain. *In* Bull. Soc. Path. Exot. vol. 5. pp. 135.

12. F. DOFLEIN. 1916. Leherbuch der Protozoenkunde.

13. FISCHER, W. 1921. Zur kenntnis der Darmamoben des Menschen. *In* Centrbl. fur Allg. Path. u. Path. Anat. Bd. 31. n°. 14. pp. 369—378.

14. HARTMANN. M. Morphologie u. Systematik der Amoeben. *In* Kolle u. Wassermann (Han. der path. Mikr) Bd. VII. pp. 607—650.

15. HARTMANN, M. 1910. Untersuchungen uber parasitischen Amoeben. *In* Archiv. f. Protistenkunde. Bd. 18. pp. 207. 220.

16. HOGUE, M. 1915. Studies in the Life history of an Amoeba of the Limax group *(Vahlkampfia calkensi* n. sp.) *In* Arch. f. Protistk. Bd. 35. pp. 154—163.

17. HOGUE, M. 1920. Life history of a new Limax Amoeba. *In* The Anatomical Record. vol. 20. nº. 2. pp. 207—8.

18. JOLLOS, V. 1917. Untersuchungen zur Morpholodie der Amoebenteilung. *In* Arch. f. Protistk. Bd. 37. pp. 229—275.

19. OEHLER. R. 1917. Amoebenzucht auf reinen Boden. *In* Arch. f. Protistenkunde. Bd. 37. pp. 175—190.

20. KOFOID, KORNHAUSER and SWEZY. 1919. Criterions for distinguishing the Endamoeba of amebiasis from other organisms. *In* Archives of Internal Med. vol. 24, pp. 35—50.

21. KOFOID and SWEZY. 1921. *Councilmania lafleuri* n. g., n. sp. *In* Univ. Calif. Publ. Zool. t. 20. pp. 169—198. (Referate *in* Jour. of Parasitology. vol. VII. nº. 1. pp. 48).

22. KUHN U. WASIELEWSKI. 1914. Untersuchungen uber Bau u. Teilung des Amoebenkerns. *In* Zool. Jahrb. Abt. Anat. vol. 38. pp. 243.

23. KUHN, A. 1915. Analyse der Chromatinerh. u. der Teil. des Amoeben kerns mit Hilfe mehrpoliger Mitosen. *In* Zool. Anz. vol. 45. pp. 564.

24. NAGLER, K. 1911. Studien uber Protozoen aus einem Almtumpel. *In* Arch. f. Protistk. Bd. 22.

25. NAGLER, K. 1909. Entw. Stud. uber Amoeben. *In* Arch. f. Protistk Bd. 15.

26. NÖLLERR, W. 1921. Uber einige wenig bekannte Darmprotozoen des Menschen u. ihre nachten Verwandten. *In* Archiv. f. Sch. u. Trop. Hig. Bd. 25. pp. 35—46.

27. SCHILLING, C. 1921. Eine polymorphkernige Amoebe. *In* Archiv. f. Protistenkunde. Bd. 42. H. 2. pp. 292—298.

28. SWELLENGREBEL, N. H. 1910 Notiz uber eine neue freilebende Amoebe. *In* Archiv. f. Protistk. Bd. 19. pp. 167. 177.

29. VAHLKAMPF, E. 1905. Biologie un Entw. von *Amoeba limax*. *In* Arch. f. Protistk., vol. 5. pp. 167.

30. WHERRY, W. B. 1913. Studies on the Biol. of Amoeba of the Limax group. *In* Archiv. f. Protistk., Bd. 31, pp. 77—93.

31. WASIELEWSKI u. HIRSCHFELD. 1910. Unterech. u. Kult. *In* Abhandl. d. Heildelb. Akad. d. Wiss. t. 1.

32. WHITMORE, E. R. 1911. Studien u. Kult. a. Manila. *In* Archiv. f. Protistk., Bd. 23. pp. 81—95.

33. WHITMORE, E. R. 1911. Parasitare u. freilebende Amoeben a. Manila u. Saigon n. ihre Beziehung zur Dysenterie. *In* Archiv. f. Protistk., Bd. 23. pp. 71—80.

34. YOSHIDA, K. 1919. Reproodution in vitro of *Ent. tetragena* and *Ent. coli* from their cystis. *In* Jour. of Exper. med. Vol. 32. pp. 357—379. Pl. 29—34.

NOTAS ENTOMOLOGICAS

II

Estudo sobre a anatomia do genero TRIATOMA.

Apparelho salivar

pelo

DR. ANTONIO LUIS DE B. BARRETO

(Adj. de assistente do Instituto Oswaldo Cruz)

(Com as estampas 8—12.)

No estudo do apparelho salivar dos representantes do genero *Triatoma* empregamos em primeiro lugar a technica de dissecção do hemiptero mergulhado em meio liquido, a qual nos permittiu considerar *in situ* a disposição das differentes partes que o compõe e nos consentiu acompanhar em todo o trajecto os delgados canais excretores ligando os diversos departamentos desse apparelho. Torna-se desnecessario lembrar o quanto de paciencia e cuidado requer a preparação de orgãos de tamanha delicadeza e fragilidade.

O processo de córtes corados, fornecidos pelo blóco thoraxico incluido em celloidina, após a indispensavel fixação em formol a 10%, informou-nos sobre as varias posições occupadas pelas diversas partes do apparelho salivar em relação ao tubo digestivo.

A inclusão das differentes glandulas, isoladamente, em paraffina e celloidina, depois de soffrerem a acção do sublimado-alcool, como liquido fixador, forneceu córtes que, depois de corados pela hematoxylinaeosina, nos orientaram sobre a respectiva histologia.

Situado a altura da porção inicial do tubo digestivo, não excedendo a parte denominada de proventriculo, mostra-se o apparelho salivar dos hemipteros do genero *Triatoma,* constituido por 3 pares de glandulas, symetricamente dispostas, distinctas na fórma e situação, ligadas entre si por um systema de conductos excretores, abrindo-se em pequeno orgão, designado *bomba salivar,* des-

tinado á expulsão do liquido n'ellas elaborado.

Na descripção que vamos proceder consideraremos uma das metades do apparelho salivar, isto é, descreveremos as glandulas e canais alojados á direita do tubo digestivo, occupando-nos depois do orgão impar (bomba salivar) encarregado de expellir a saliva.

Glandula accessoria

A glandula mais posterior, espheroide, de paredes muito delgadas e transparentes, acha-se intimamente unida á parede do proventriculo por meio de ramos tracheaes. O isolamento é facilitado quando se lança mão do artificio de decapitar o insecto no dia anterior ao da disecção, porque o liquido amarello-citrino nella accumulado provocando forte distenção de suas paredes tornam-na mais visivel e saliente.

Nos exemplares adultos da especie *Triatoma megista* possue as seguintes dimensões:

♂ comp.: 1mm,35
largura: 1mm,2

♀ comp.: 1mm,4
largura: 1mm,3

Histologicamente é constituida por delgada membrana basal e uma camada de cellulas chatas, pavimentosas.

E' considerada simples reservatorio de saliva, donde a designação de glandula salivar *accessoria*.

Do pólo antero-externo desta glandula parte o canal excretor, denominado *canal accessorio*, o qual correndo parallelamente ao esophago, penetra na cavidade cephalica, recurva-se em alça, volta em sentido opposto e se vai abrir na glandula media ou supplementar. Mostra o canal accessorio as seguintes dimensões:

♂ comp. total: 6mm,0
até a alça: 3mm,50
porção reflectida: 2mm,50
largura maxima: 0mm,1
minima: 0mm,045

♀ comp.: total: 7mm,50
até a alça: 4mm,0
parte: reflectida 3mm,50
largura.: maxima: 0mm,12
minimaa: 0mm,050

Glandula supplementar

A glandula media que designamos de *supplementar*, acha-se collocada um pouco acima da anterior, ao lado da porção inicial do proventriculo. Mostra-se de tal fórma ligada á glandula principal, que tem sido considerada por alguns observadores como diverticulo desta.

De aspecto piriforme, tem as seguintes dimensões:

♂ comp.: 1mm,12
largura: 0mm,62

♀ comp.: 1mm,20
largura: 0mm,64

A sua estructura é identica á da glandula accessoria, isto é, uma camada de cellulas pavimentosas repousando sobre membrana basal. Esta igualdade de constituição histologica leva-nos a consideral-as apenas um reservatorio de saliva.

A' sua parte media vem ter a outra extremidade do canal accessorio.

Glandula principal

Fortemente unida á glandula supplementar, occupa a glandula principal, com relação a esta, uma posição antero-externa. E' facilmente destinguida das outras, claras e transparentes, pela côr amarello-sujo e notavel opacidade.

De aspecto reniforme, possue as seguintes dimensões:

♂ {comp.: 1mm,25
{largura: 1mm,0

♀ {comp.: 1mm,37
{largura: 1mm,08

Histologicamente differe muito das anteriores. Aqui sobre membrana basal hyalina repousam cellulas glandulares, altas, polyedricas, não raro abertas para a cavidade da glandula, de protoplasma granuloso e nucleo de aspecto typico, de chromatina destribuida em chromosomos. Como se vê possue estructura glandular caracteristica.

Constitue por excellencia o departamento elaborador da saliva.

Da parte mais estreita, isto é, do hilo, em relação intima com o ponto da glandula supplementar onde vem ter o canal accessorio, nasce o *canal principal,* o qual, parallelamente disposto ao anterior, entra na cavidade cephalica indo abrir-se na bomba salivar, ora isoladamente, ora anastomosado ao seu homonymo do lado opposto, constituindo um canal unico. Suas dimensões são as seguintes:

♂ {comp.: 5mm,30
{largura: 0mm,60

♀ {comp.: 6mm,40
{largura: 0mm,65

Bomba salivar

O orgão impar do apparelho salivar do barbeiro, o *receptaculo salivar* ou *bomba salivar,* é constituido por uma camara de fórma conica, de paredes fortemente chitinisadas, no interior da qual move-se um embolo ou piston de aspecto muito caracteristico.

Collocado no interior da cavidade cephalica, por baixo do pharynge, sobre a face ventral do insecto, somente póde ser este orgão observado em seus menores detalhes quando se destáca, por duas incisões lateraes, a metade superior da cabeça do hemiptero, depois de soffrer esta a acção demorada (8 a 10 dias) de soluto de soda ou potassa a 40 %.

Abrindo-se adiante, por meio de canal alongado, no ponto onde se põem em contacto as mandibulas, é fechada posteriormente a bomba salivar, por delgada membrana flexivel. Um systema de musculos obliquos, antagonistas, protractores e retractores, accionam o embolo, occasionando a aspiração da saliva para o interior do estojo chitinoso e a sua expulsão atravez do *canal salivar*, existente na probocida do hemiptero, o qual, como sabemos, resulta da adaptação, uma contra a outra, das mandibulas (1).

Physiologia

Conhecida a morphologia e histologia das diversas partes do apparelho salivar do barbeiro, comprehende-se facilmente o seu funccionamento.

Elaborada exclusivamente pela glandula principal, unica mostrando constituição glandular typica, escôa-se a saliva pelo canal principal até a bomba salivar, d'onde é expellida atravez do canal salivar, encerrado na proboscida. Quanto ao papel desenpenhado pelas glandulas, accessoria e supplementar, acreditamos seja elle de simples reservatorio de saliva, onde vae ter o excesso de producção da glandula principal. Quando a porção de saliva contida na glandula principal não fôr sufficiente para satisfazer as necessidades do insecto, recorrerá elle ao *stock* accumulado nas outras duas glandulas, o qual se escoará atravez da glandula principal, graças á communicação existente no ponto de emergencia do canal principal, entre este e o canal accessorio.

Manguinhos, 4 de Novembro de 1920.

(1)—Vid. Barreto—A. L. B.—Notas entomologicas. I Estudos sobre a anatomia do genero *Triatoma.* Proboscida e tubo digestivo. Brasil-Medico. Anno 33-1919 n. 21 pag. 161.

Explicação das estampas.

Estampa 8.

Fig. 1.--Pharynge.
Fig. 2.—Esophago.
Fig. 3.—Proventriculo.
Fig. 4.—Intestino e tubos de Malpighi.
Fig. 5.—Ceco.
Fig. 6.—Recto.

Estampa 9.

Fig. 1.—Glandula accessoria.
Fig. 2.—Glandula suplementar.
Fig. 3.—Glandula suplementar.
Fig. 4.—Canal accessorio.
Fig. 5.—Canal principal.
Fig. 6.—Bomba salivar.

Estampa 10.

Fig. 1.—Bomba salivar.

Estampa 11.

Fig. 1.—Bomba salivar.

Estampa 12.

Fig, 1. A.—glandula principal.
B.—córte longitudinal.
C.—proventriculo.
D.—córte transverso do canal principal.
Fig. 2. AA.—glandulas principaes.
BB.—glandulas supplementares.
C.—proventriculo.
DD.—glandulas accessorias.

Um cazo de mola complicado de corio-carcinoma

pelo

Dr. OSWINO ALVARES PENNA.

(Com as estampas 13—16.)

(Secção de Anatomia Patologica do Instituto Oswaldo Cruz.)

A prezente observação não vem abrir propriamente novos horizontes ao estudo dos corio-carcinomas; apenas nos oferece a oportunidade feliz de acompanhar um desses tumores em varias fazes de sua evolução, graças á gentileza do DR. CAMILLO BICALHO.

A observação clinica feita pelo nosso colega é assim descrita:

«A. F., branca, portugueza, 27 annos de idade, casada, constituição forte.

Antecedentes: hereditarios, bons.

Pessoaes: Temperamento, altamente nervoso. Nunca teve molestia grave. Queixa-se de máu estomago. Teve 2 filhos, um dos quaes—o primeiro— tirado a forceps, tem hoje 5 annos de idade; o segundo, nascido naturalmente, faleceu aos 2 annos e teria hoje quasi 4. As suas gravidezes foram penosas, com accidentes nervosos, soffrendo principalmente do estomago, com vomitos pertinazes. Nunca teve aborto.

Examinada pela primeira vez em 15 de Janeiro de 1920. Julga-se gravida ha 2 mezes, e desde Novembro não é menstruada; durante esse tempo tem passado mal do estomago. Ha cerca de 5 dias está em tratamento com o Dr. PAES BARRETO, porque vomita tudo o que ingere, mesmo a agua, e tem tido pequenas hemorrhagias uterinas, sem dôres. Não tolera no estomago medicamento algum.

O exame local revela utero mediano, de consistencia molle, muito grande para 2 mezes, com o collo normalmente amollecido e fechado. Não tem febre; pulso pequeno (media de 90 a 100 por minuto).

Impossivel qualquer medicação interna, que não tolera; appliquei gelo sobre o estomago, o que trouxe ligeiro allivio aos vomitos; injecções de oleo camphorado, e irrigações vaginaes. As hemorrhagias e os vomitos continuaram com alternativas de melhoras e peioras, pequenas aquellas, com intervallos de

2 e 3 dias sem sangue. Injecções diarias de sôro hormo-gravidico não dão rezultado, mas a adrenalina injectada diariamente traz algumas melhoras aos vomitos. Pouco a pouco todas as coisas melhoram, parecendo que tudo entra na ordem. Suspendi as minhas visitas no dia 24 de Janeiro.

A 13 de Fevereiro sou novamente chamado porque todos aquelles symptomas tinham reapparecido. Confessou-me que até esta data nunca passou bem do estomago, mas que as hemorrhagias haviam cessado, só reapparecendo nesse dia, coincidindo com vomitos novamente rebeldes. A doente perdera as suas bonitas cores, estava emmagrecida e sentia-se fraca. O utero cresceu desmedidamente—parece uma gravidez de 6 ou 7 mezes; é de consistencia molle e pastosa, dolorosa ao exame; não se ouve ruido cardiaco nem sopro placentario; collo molle e fechado. O contacto do dedo no collo do utero provoca vomitos immediatos, causando-lhe mau estar e peiorando o seu estado. Pulso variando entre 100 e 120, sem febre. As urinas examinadas, eram normaes.

Si bem que sem diagnostico preciso, mas impressionado pela evolução anomala da pseuda-gravidez e pelo estado geral da doente, sempre aggravado pelos vomitos, proponho intervenção para esvasiamento do utero, que é recusada. No dia seguinte insisto novamente pela operação, mas a doente se declara muito melhor (melhora que não existia) e recusa novamente o que lhe era proposto, pelo que foram de novo suspensas as minhas visitas.

No dia 25 de Fevereiro sou chamado de madrugada. Encontro a doente notavelmente magra, anemiada e sem forças; pulso de 140, apyretica. Utero talvez maior do que um de 9 mezes. Declaro que nada mais faria senão a operação, já então perigosa e urgente, quando, 2 ou 3 horas depois, a doente expelle, rapidamente, uma mola hydatiforme, com cerca de 4 kilos. No meio das hydatides, dos coagulos e do liquido nada foi encontrado que se parecesse com o embryão. A temperatura vae a 37.8 e o pulso a 160. Injecções de sôro physiologico etc. E' pessimo o seu estado geral. Pelo toque digital sente-se que ainda existe qualquer coisa no utero.

Tem dores no ventre, especialmente no ovario direito. Impressionada pelo aspecto das massas expellidas, a familia permitte a curetagem uterina, que é feita no dia 26 de manhã, em mau estado geral.

Depois de feita a curetagem instrumental, examinado o ventre, nota-se o utero, pequeno e globoso, acima do pubis, e encontram-se nitidamente 3 outros tumores, independentes entre si e independentes do utero, todos bastante dolorosos: um do tamanho de uma tangerina, no ovario direito; outro, pouco maior e pouco menos doloroso, no ovario esquerdo; e um terceiro, de volume 3 vezes maaior do que este, movel, bem delimitado, mais ou menos liso, alongado no sentido longitudinal do corpo, como que repousando sobre a aorta, um pouco á esquerda da linha mediana e pouco acima do umbigo, muito doloroso.

Do diario da casa de saude extrahi os seguintes dados:

«Dia 26 — Continua mal — passou mal; pulso 160, vomitos frequentes — deliquios.

Dia 27 — Continua mal — curativo pela manhã: lavagem e drenagem uterina (gaze iodoformada) — depois do curativo peiorou notavelmente, principalmente dos vomitos — retirei á tarde a gaze do utero o que lhe trouxe algum allivio.

Dia 28 — Mal; injecções de adrenalina, cafeina, oleo camphorado e sôro; continua o gelo sobre o estomago; lava-

gem uterina, sem drenagem (depois do curativo ha peiora passageira).

Dia 29 — Tudo na mesma — Injecção de lantol pela manhã e a tarde, com bom resultado (V. quadro de temperatura) — vomitos tendem a melhorar —lavagem vaginal simples — ha pouco corrimento, ligeiramente sanguineo.

Dia 1 de Abril — As melhoras se accentuam — poucos vomitos já.

Continuou-se durante alguns dias com as lavagens vaginaes simples, as injecções de lantol e oleo camphorado.

No dia 6 de Abril a doente sahiu da casa de saude. Perdeu talvez 2/5 de seu peso, e não se consegue ter nas pernas. Anemia notavel. Alimenta-se regularmente. A temperatura é normal, com o pulso entre 90 e 100. O ventre é flacido, com dois tumores apenas, pois que o do ovario direito desappareceu; os outros 2, porém, parecem augmentados de volume, si bem que menos dolorosos.

Em casa ella ficou entregue aos cuidados do seu medico assistente, para restaurar-lhe as forças, afim de poder supportar a operação que julgo necessaaria — hysterectomia e (si possivel) extirpação dos 2 tumores, cuja natureza não posso precisar, mas que supponho serem metastases do chorio-epithelioma uterino.

Examinei novamente a doente em 11 de Maio. O estado geral é satisfatorio; alimenta-se bem, vae ganhando cores e peso. Foi menstruaada 2 vezes, regularmente, perdendo pouco sangue, com pequenas dores.

O toque vaginal revelou um utero indolor quasi, de tamanho e consistenciaa normaes. O exame do ventre não deixa perceber tumor de especie alguma (!). A região dos ovarios está perfeitamente flacida e indolor ; no ponto em que havia o tumor maior ha apenas um empastamento duvidoso, com ligeira sensibilidade, que não sei si poderá ser attribuida áquelle tumor.

Estes tumores, tão nitidos, que foram percebidos pela enfermeira sem que eu os mostrasse, foram tambem constatados pelos Drs. CARLOS WERNECK e PAES BARRETO, e por mim ainda sentidos cerca de um mez depois de sua sahida da Casa de Saude.

A doente não quer ouvir falar em operação.

A 25 de Setembro, novo chamado. A doente reconquistou quasi o seu peso normal, e tem bôas cores. Passára admiravelmente bem até cerca de 2 mezes antes. A menstruação, que deveria ter vindo a 20 de Julho, faltou. Julga-se gravida desde então, hypothese que confirma pelas indisposições gastricas que vem soffrendo. Desde a vespera (24 de Setembro) recomeçára a vomitar repetidamente e tivera pequenas perdas sanguineas. O exame revelou utero não doloroso, grande para 2 mezes de gravidez, com o collo amollecido e fechado. O toque digital causava-lhe nauseas. Pulso de 100, apyretica.

Declarei que não tomaria conta da doente sem o compromisso de deixarem-na operar dentro de 2 ou 3 dias.

No dia 26 pela madrugada a doente tem, repentinamente, abundantissima hemorrhagia. Encontro-a deitada no meio de grandes coalhos, exangue quasi, com pulso imperceptivel e collapsos repetidos. Faço um forte tamponamento vaginal, injecções cardiotonicas, ergotina e sôro gelatinado em abundancia, emquanto se cuida de leval-a para a casa de saude.

Foi nesta mesma manhã operada, sob anesthesia pelo ether; hysterectomia total, com ablação dos annexos esquerdos. No ovario d'este lado havia um pequeno abcesso, com cerca de 5 c. c. de pús amarello claro. Sutura da vagina, sem drenagem.

Com o ventre aberto pesquizei, em

vão, os antigos tumores sentidos. A não ser o pequeno abcesso do ovario esquerdo (que o exame previo não déra a perceber), nada mais foi encontrado de suspeito. Não podiam esses nodulos ser fecalomas, pela sua grande sensibiliidade e por não se terem desfeito com mais de um purgativo tomado pela doente. Metastazes que regredissem?

Sequencias operatorias, optimas; retirada dos *agrafes* no 8º dia. Não tivera nenhuma elevação thermica e o pulso melhorára gradativamente, achando-se, então, nas visinhanças de 90 por minuto.

No 9º dia a doente queixa-se de pontadas no hemithorax esquerdo e tem á tarde, pequena elevação de temperatura. No 10º dia, a pontada continuava e a febre subia a 38º e havia escarros ligeiramente hemoptoicos. Chamado o seu medico assistente, constatava um fóco congestivo do pulmão e estabelece o necesario tratamento (medicação interna, ventosas, injecções de oleo camphorado e lantol). O receio muito fundado de uma metastase pulmonar pareceu pouco a pouco afastado, pela evolução d'esse fóco congestivo para um fóco de pneumonia franca, a não ser que a metastase se prestasse a esta confusão e regredisse muito rapidamente.

Essa complicação intercorrente evolue sem maior gravidade, e, com 20 dias de estadia, a doente sahe da Casa de Saude, curada.

De então para cá, os seus progressos tem sido rapidos. Parece curada da sua antiga dyspepsia, alimenta-se bem, ganhando côres e peso. O ventre é completamente insensivel e a cicatriz vaginal bôa, assim como a da pelle do ventre.

Rio, Outubro 30, 1920.»

No dia seguinte á expulsão da mola, procurámos o material em caza da doente e o encontramos em uma bacia com agua corrente. O material constava de veziculas de dimensões, variando entre as de uma uva grande e veziculas microscopicas, umas tensas, outras murchas, algumas rotas, além de coagulos vermelho-claro, descorados naturalmente pela agua, que era fortemente tinjida em vermelho. Tudo pezava cerca de 4 quilos. Procurámos com tenacidade, e muita vontade de achar, o embrião, mas fomos mal succedidos e dele não encontrámos nem vestigios. A côr das hidatides era de um pardo claro.

A fig. 1 reprezenta a fotografia do exemplar conservado em liquido de Jores no Museu do Instituto Oswaldo Cruz com a rubrica P. C. 1144.

Tomámos muitas dessas hidatides, de preferencia as menores, que, incluidas em parafina, foram cortadas e coradas pela hematoxilina-eozina. Ao exame das preparações, verificámos logo que os nucleos das celulas de Langhans e dos sincitios, não se haviam tinjido de modo peculiar e eletivo pelo corante bazico da mistura, o que prezumimos correr por conta da maceração longa em agua corrente antes da fixação.

Histolojicamente os córtes das hidatides examinadas, mostravam com lijeiras variantes, a mesma estrutura: na porção central um tecido fibro-mucozo muito frouxo, em certos pontos parecendo edemaciado, tal era a distensão de suas malhas. Envolvendo essa formação, uma especie de membrana vitrea, constituida por tecido fibrozo, parecendo que as fibras conjuntivas das malhas se haviam condensado para constituir uma capsula que as sustentasse. Dispostas verticalmente sobre esta vitrea, celulas epiteliais altas, e sobre essa camada celular, massas protoplasmicas de dimensões variaveis, muito separadas umas das outras, com muitos nucleos; as primeiras eram celulas de Langhans e as segundas massas sincitios. O estudo dessas celulas não poude ser feito detalhadamente por isso que a maceração

lhes havia alterado a estrutura histolojica.

Este aspeto é o indispensavel para se fazer o diagnostico microscopico de mola, e para saber porquê, vejamos o que é histolojicamente a mola.

A mola é um blastoma benigno, estruturalmente mixto, rezultante da hiperplazia tipica das vilozidades do corion, sem novo-formação dos vazos umbilicais. Normalmente a vilozidade é constituida por tecido fibro-mucozo, tendo na parte central um ramo da arteria umbilical; este tecido mucozo é circumscrito por uma camada delgada de tecido fibrozo condensado, de onde partem para o interior da vilozidade fibras izoladas ou reunidas, formando traves que, se cruzando em varios sentidos, constituem as malhas, nas quais se mantém o tecido mucozo da vilozidade, em tudo semelhante á gelatina de W*harton* do cordão. Externamente se ajustam sobre esse tecido conjuntivo condensado, que constitui uma verdadeira capsula para a vilozidade, celulas epiteliais com a forma, na sua maior parte, poliedrica e cilindrica, muito apertadas umas contras as outras e adaptadas verticalmente á membrana conjuntiva, como si essa fosse uma membrana vitrea. Estas celulas são as celulas de *Langhans*. Sobre estas encontram- se massas protoplasmicas não contiguas, sem formar uma camada continua em torno da vilozidade, mas separadas por espaços maiores ou menores. Essas massas protoplasmicas mostram sempre numerozos nucleos e são chamados sincitios pelos alemães e plasmodios por DUVAL Pois bem, a mola é a hiperplazia total desse conjunto, havendo porém uma hiperplaazia relativa das celulas epiteliais da vilozidade; assim é que aumentam as celulas de *Langhans* e os sincitios.

Em que difere uma vilozidade corial de uma hidatide da mola? No seguinte:

1º) Em geral toda vilozidade mostra um corte de arteriola, outro de venula, ramusculos da arteria e veia umbilicais; em geral a hidatide não mostra corte de vazos.

2º) Na hidatide ha sempre uma hiperplazia limitada, ordenada das celulas de Langhans e dos sincitios

No nosso cazo foi a falta de vasos nos cortes das diversas hidatides, que nos permitiu o diagnostico histolojico de mola, o que se pode verificar na microfotografia dos cortes de algumas hidatides focalizadas em fraco aumento e reproduzidas na Fig. 2.

Está hoje perfeitamente estabelecido que a mola é um tumor, porque rezulta da hiperplazia autonoma de determinadas celulas do organismo. VIRCHOW denominou-a «mixoma chorii». LANGHANS contestou, mostrando que se não pode caracterizar o tecido mucozo, nem histolojicamente, nem pelas reações microquimicas.

No modo de ver de LANGHANS, ORTH e FRANQUE' trata-se de um *stato edematoso* das vilozidades do corion. MARCHAND e FRAENKEL, concordam que na mola são da maior importancia caracteristica as alterações do epitelio da vilozidade e a proliferação irregular, principalmente do estrato celular de LANGHANS.

DURANTE chama á mola adenoma-vilozo. Ultimamente WERTH (Die Extrauterinsch Wangerschaft Handb. der Geburt 1904) volta a falar em degeneração hidropica a propozito dos diagnosticos de mola extra-uterina nos cazos de prenhez tubaria, em que se tem visto inumeras vezes, formação de mola, e WERTH chama dejeneração hidropica, com maceração do epitelio corial. Entretanto, a dejeneração hidropica ou a hidropsia das vilozidades ocorre quando estas se destacam de seus pediculos ou nos cazos de obstaculo á circulação venoza umbilical, no aborto

por exemplo, e não se confunde com a mola, o que foi demonstrado por WILLIAM MEYER, do Carnegie Institution de Washington.

A mola é um tumor benigno, por isso que a hiperplazia que a condiciona, reproduz sempre tipicamente a mesma estrutura histolojica já existente no organismo, a vilozidade; além disso não tem tendencia a invadir os tecidos vizinhos e não faz metastazes a distancia. E foi conhecendo essa condição da mola, que logo pensámos, no nosso cazo, em mola seguida de corio-carcinoma, pela descrição na historia clinica de metastazes.

Tumor estruturalmente mixto, a mola, porque se fórma á custa da hiperplazia, ao mesmo tempo, de tecido mucozo e epitelial sem que se subentenda na acepção de tumor mixto teratoide, pois a mola não é conjenita, deve ser incluida na classe dos tumores mixtos *conjuntivo-epiteliais* de ASCHOFF e BORST.

Conforme a sua estrutura histolojica merece a denominação de corio-mixo-adenoma. Corio determina a séde, mixoma traduz a hiperplazia de tecido mucozo e adenoma porque dela participam as celulas de *Langhans e os* sincitios.

As celulas de *Langhans* e os sincitios devem ser considerados como celulas epiteliais altas, sobretudo as celulas de *Langhans* ás vezes, mesmo com fórma cilindrica. Além disso, é atravez ou por estas celulas que se processam as trocas nutritivas entre o sangue materno e o fetal. Como já é hoje sabido, a camada formada por estas duas ordens de celulas, não se comporta como simples dializador: ao contrario elas preenchem funções de secreção e excreção, selecionando entre os elementos nutritivos do sangue materno os aproveitaveis ao embrião. Desempenham papel de celulas glandulares; dali, para nós, a denominação de adenoma ao tumor em questão. Atendendo á sua orijem ectodermica, essas celulas tem sido consideradas como epiteliais chatas e, por isso, a denominação de corio-epitelioma. Mas, já é atualmente noção adquirida que o ectoderma dá orijem a celulas epiteliais altas, mesmo cilindricas, como por exemplo as das fossas nazais e foi assim que fracassou a classificação dos epitelios em função de sua orijem blastodermica.

Mas si considerarmos estas celulas epiteliais como glandulares, deveremos talvez fazer da vilozidade um acino glandular invertido, em que as celulas epiteliais ao envez de se mostrarem voltadas para a luz glandular, se ajustassem pelo lado exterior da vitrea. E nesse cazo a mola seria simplesmente um adenoma e não um tumor conjuntivo-epitelial, sem levar em conta o tecido conjuntivo da mola, assim como não se considera o tecido conjuntivo das vitreas dos acinos glandulares novo-formados no adenoma, como parte integrante do tumor. De fato, é sabido hoje que o tecido conjuntivo que fórma o esqueleto, o sustentaculo dos tumores epiteliais, não goza das mesmas propriedades de elemento formador do tumor, como as celulas epiteliais. Isso foi verificado experimentalmente, nos tumores epiteliais enxertaveis. Quando se enxertam apenas celulas epiteliais do tumor de um animal em outro animal, forma-se um neoplasma á custa dessas celulas epiteliais do primeiro portador no segundo hospede; porém, o tecido conjuntivo que sustenta as celulas epiteliais pertence ao animal enxertado. Quando, por outro lado, dum tumor epitelial enxertavel, se retiram por processos especiaes as celulas epiteliais e se enxerta só o tecido conjuntivo, não se reproduz o tumor.

Parece, á primeira vista, que, tendo em mente essas considerações, deviamos fazer da mola um adenoma simples,

Mas é precizo pensar que a hidatide não é um acino glandular e tambem que o tecido conjuntivo da mola é reprezentado por grande quantidade de tecido mucozo hiperplaziado, que não tem papel de sustentaculo das celulas epiteliais, emquanto no acino glandular novo-formado do adenoma, o tecido conjuntivo é reprezentado apenas por tecido fibrozo, cujo unico fim é servir de esqueleto para as celulas epiteliais.

No nosso cazo particular, o Dr. CAMILLO BICALHO, assim como nós, não encontrou vestijio de embrião; parece, entretanto, a regra na mola em gravidez de dois mezes, que, por isso mesmo, se costuma chamar *mola esteril.*

Não ouzariamos propor a denominação longa de corio-mixo-adenoma para substituir a de mola; esta é insubstituivel e com razão. Mola corresponde para toda a gente a um aspecto macroscopico anatomo-patolojico muito caracteristico e seria absurdo substituil-a por uma denominação, que corresponde aos caracteristicos microscopicos, vistos relativamente por pouca gente; o mesmo não acontece com a denominação de corio-epitelioma como vamos ver.

Mola originou-se de *μύλη, ης,* que significa *falso germen,* e de fato, clinicamente, a mola simula gravidez; e o qualificativo hidatiforme completa a sua determinação pelo aspeto macroscopico. Quando muito, o nome de corio-mixo-adenoma servirá para definir a mola.

Algum tempo depois do estudo da mola, recebemos do Dr. CAMILLO BICALHO a peça anatomica obtida por histerectomia total e ovariectomia praticada por esse cirurgião, na mesma doente.

Pelo exame macroscopico, a peça consta de todo o utero (corpo e colo), ovario e trompa esquerdos. O ovario augmentado de volume ,roto em uma das suas faces, mostra-se constituido por uma cavidade de 3 centimetros no maior diametro, medindo a parede cerca de 0cm,5. A superficie exterior, liza, luzidia; a superficie interior da cavidade, rugosa, vermelha escura, contendo ainda restos de um liquido espesso, escuro sanguinolento. Contra uma das paredes da cavidade, vê-se uma massa amarelada, bem limitada, de consistencia firme, provavelmente cicatriz do corpo amarelo.

A trompa não parece alterada.

A porção uterina da peça mede 11× 10×9 cms. Quando chegou ao laboratorio, pouco tempo apóz a intervenção já vinha aberta na parte media anterior. A parede do utero mede 3 cms. junto ao fundo, e 2 cms. nas proximidades do colo.

A cavidade uterina dilatada, largamente aberta pela incizão, está totalmente ocupada por uma massa com dois aspectos macroscopicos bem diferentes e em volume quasi iguais. A porção maior, mais proxima ao fundo do utero é constituida por cachos de hidatides muito pequenas, de côr amarelo-palido, de dimensão média de um grão de milho e, entre eles, pequenos coagulos vermelhos. A porção menor do conteudo uterino, mais proxima ao colo é formada por um grande coagulo vermelho, de contorno mais ou menos esferico, regular, bem limitado por sua superficie exterior e fortemente aderente á parede posterior do utero; dentro do coagulo foram encontradas hidatides pequenas, esparsas. Todo o conteudo mede cerca de 8×5×3 cms.

Examinando o miometrio na incizão da parede, percebe-se seu colorido esbranquiçado e, á palpação, a consistencia é muito dura; de longe em lonje destinguem-se cortes de vazos. Em exame atenciozo, veem-se bridas mais ou menos espessas, irradiando da cavidade uterina em direção ao perimetrio, mas que se perdem nos tecidos do miometrio, antes de o atinjirem. O endometrio não foi examinado com detalhe para não prejudicar a bôa conservação do exemplar, sem maior vantajem para o es-

tudo da peça. Esta se acha conservada no Muzeu do Instituto e foi reprezentada na Fig. 3 vista de frente e na Fig. 4 de perfil, distinguindo-se, nesta ultima, os pontos de onde foram retirados os fragmentos para o estudo histolojico. O perimetrio, lizo, não mostra alterações macroscopicas.

Foi pelos cortes histolojicos que chegámos ao diagnostico de corio-carcinoma. Quais foram os elementos que nos permitiram esse resultado? Pelo exame das laminas percebemos que com aumento fraco a estrutura do miometrio se mostrava seriamente alterada e grandes hemorrajias se haviam processado em plena musculatura. A alteração principal era a separação das fibras lizas do musculo uterino, por celulas inteiramente extranhas á sua histolojia normal: celulas epiteliais de fórma muito variavel, ora poliedrica, ora cilindrica, algumas vacuoladas. Como se vê na Fig. 5, destas, algumas de protoplasma abundante, fortemente corado pela eozina, outras, de protoplasma mais reduzido e descorado. O que principalmente caracteriza essas celulas é o alto pleomorfismo de seu protoplasma e nucleo. Elas se intrometem entre as fibras lizas e as separam fortemente, perturbando-lhes a nutrição, a ponto de leval-as á dejeneração hialina, como se vê em *d* Fig. 6. Ainda estas celulas aderem aos vazos e seios venozos do miometrio, atravessam a parede, o endotelio, determinando hemorrajias, que inundam de sangue largas zonas do miometrio e as cellulas tumorais enchem a luz dos seios venosos. Em muitos pontos verificam-se formações cariocineticas; com observação apurada em forte aumento, pode-se em pontos mais limitados fazer diagnostico de cariocizene multipolar. Estas formações são o rezultado de hiperplazia atipica das celulas de *Langhans*.

A fig .5, microfotografia de uma lamina focalizada com fraco aumento, deixa ver em uma larga zona do miometrio, em *a*, numerozas celulas de *Langhans* com seu pleomorfismo peculiar, quando nos tumores dessa natureza.

Na fig. 7, dezenho de zona limitada, em um córte corado pela hematoxilina-eosina, vemos muitos aspetos de tumor; a—celula de *Langhans;* b—sincitios; c—fibras musculares lizas separadas pelas celulas de Langhans; d—fibras musculares lizas em dejeneração hialina.

Ao exame demorado encontramos, entre as fibras do miometrio, raros sincitios. Embora pareça isto bizarro, é, entretanto, um fato, explicavel talvez, a nosso ver, pela malignidade do tumor.

E' precizo acentuar bem que essas celulas se espalham, intrometem, invadem o miometrio e muito se aproximam do perimetrio; entretanto, nos nossos cortes não vimos nenhuma celula tumoral atinjir essa porção de parede uterina.

Essa descrição se refere exclusivamente ao que se vê nos cortes da parede uterina propriamente. Mas, é preciso lembrar, ao recebermos a segunda peça da doente do Dr. CAMILLO BICALHO, descrevemos o utero e seu conteudo de hidatides, pequenas e algumas tão aderentes á parede uterina que foram comprendidas nos córtes desta ultima. O exame microscopico destas hidatides mostra seu estroma fibro-mucozo em tudo semelhante ao da mola, apenas modificados os elementos epiteliais; com efeito, houve uma hiperplazia atipica, dezordenada das celulas de *Langhans* e dos sincitios, principalmente das primeiras, que formam grupos de celulas muito parecidos com aqueles descritos na parede uterina; e esses grumos, massas de celulas, desprendem-se da superficie de uma hidatide e se intrometem dezordenadamente entre as de mais hidatides. Esse aspeto pode-se ver bem na Fig. 7 e 8, dezenho com fraco aumento da hidatide: a hiperplazia dos sincitios em *a* e da massa de celulas

de *Langhans* em *b*. Assim descrito e diagnosticado nosso cazo particular vejamos qual a definição mais exata de corio-carcinoma.

Corio-carcinoma é um blastoma determinado pela hiperplazia atipica das celulas epiteliais das vilozidades coriais, que se dezenvolve no organismo materno.

Na definição acima, para compreender todo o definido e só o definido, juntamos «*que se desenvolve no organismo materno*», com o fim propozitadamente, de excluir as formações no homem derivadas das vilozidades coriais. Destas não pretendemos tratar aqui pois o fato de serem conjenitas, as inclui entre os teratomas. Tratando da estrutura histolojica do tumor, é precizo saber qual dos dois elementos epiteliais predomina na formação dos corio-carcinomas, si as celulas de *Langhans*, si os sincitios. No nosso caso a predominancia das celulas de *Langhans* é simplesmente enorme em relação aos sincitios. E assim acontece nos demais cazos descritos, com lijeiras variantes, sempre porém as celulas de *Langhans* em numero muito maior. Por outro lado, é sabido que, mesmo no decurso de gestação normal, os sincitios podem deixar a superficie da vilozidade e penetrar na mucoza e até mesmo na parede uterina e quando essas massas celulares invadem em grande numero a mucoza, ocazionam a chamada metrite sincitial; porém, quer num quer noutro cazo, essa migração de sincitios não fórma tumor.

As massas celulares podem atinjir o pulmão e o figado. Ultimamente SCHMORL quiz mesmo explicar a eclampsia como sindrome toxica, determinada pela prezença dos sincitios no figado. Com efeito encontram-se estas celulas nas necropsias em cazos de eclampsias, sem que, entretanto, se possa estabelecer com segurança, uma relação de cauza e efeito entre os sincitios e aquela sindrome.

Ao contrario do que acontece com os sincitios na maioria dos cazos, sempre que as celulas *Langhans* deixam as vilozidades, para invadir os parenquimas, ha formação tumoral.

O corio-carcinoma nem sempre é precedido da mola; nesse particular a melhor estatistica é de Briquel, publicada no Surgery Gynecology and Obstetrics: de 112 cazos, estudados por esse ginecologo, 21 sucederam a partos a a termo (18,4%), 34 consequentes a aborto (30,3%), 54 ocorreram depois de mola (48,1%) e 3 foram precedidos por prenhez tubaria (2,6%).

Tem-se confundido, mesmo ultimamente, corio-carcinoma com a mola hidatiforme. Esta confusão não se justifica, pois são dois tumores estruturalmente diversos. Muitas vezes o corio-carcinoma é precedido pela mola; esta dá lugar áquele; mas isto não constitui motivo para identifical-os. Frequentemente, o fibro-adenoma da mama na mulher, dá lugar á formação de carcinoma e, entretanto, são dois tumores diversos em sua anatomia microscopica, em sua estrutura e na evolução, embora as unidades histologicas, as celulas que os constituem sejam identicas. Pois bem; entre os corio-carcinoma e a mola ha essa mesma diferença e mais a constituição histologica diversa; emquanto o corio-carcinoma é formado apenas de celulas epiteliais, a mola é o rezultaado da hiperplazia de epitelio e tecido conjuntivo.

Além disto, já vimos que póde haver mola sem corio-epitelioma e viceversa.

Vejamos em resumo quais as diferenças entre a mola e o corio-carcinoma.

A mola:

1º) é um tumor estruturalmente mixto de tecido epitelial e conjuntivo;

2º) é um tumor benigno, não produz metastazes senão raramente.

O corio-carcinoma:

1º é um tumor exclusivamente epitelial;

2º) é um tumor maligno, complicando-se geralmente de metastazes graves.

No tumor mola, a vilozidade corial dá lugar, por hiperplazia tipica, regular, á formação de muitas hidatides em tudo semelhantes á vilozidade; emquanto no tumor corio-carcinoma apenas as camadas celulares epiteliais, abandonando sua sede se hiperplaziam átipica e dezordenadamente, invadem os vazos, os parenquimas e não reproduzem mais as vilozidades.

Tem-se dito que não é possivel fazer microscopicamente o diagnostico entre tecido da mola, do corio-carcinoma e do corion normal; entretanto, segundo WILLIAM MEYER, já mostramos que é quasi sempre possivel fazer pelo menos o diagnostico entre vezicula corial e hidatide da mola.

PICK e SCHLAGENHAUFER estudando uma metastaze vajinal de corio-epitelioma, chegam á conclusão de que ha duas modalidades deste tumor, e GRAVES, em seu livro Gynecology, a esse propozito assim escreve: «when the fact became known that the disease might be either benign or malignant, every effort was made by pathologists to discover some distinguishing histologic mark by which the two forms might be differentiated. These efforts have been unsuccessful. MARCHAND, ASCHOFF, KISSEL, v. FRANQUEE, ALBRECHT, HORMANN, and others agree that we have absolutely no histologic criterion for determining the malignancy of these tumors.»

Apezar das autoridades de vulto tão consideravel citadas em favor desta opinião, permitimo-nos objetar, que nos repugna a divisão de corio-epitelioma em benigno e maligno. Epitelioma «benigno» traz uma verdadeira dezordem nas couzas, que, com tanto cuidado e apuro, tem os histolojistas modernos, de acordo com os fatos, procurados sistematizar.

Vejamos o que se pode entender por corio-carciona benigno e maligno. Admitir que um tumor, diagnosticado corio-carcinoma histologicamente, como o fizemos e definimos anteriormente, possa ter duas modalidades, uma benigna e outra maligna, parece muito arriscado para o doente e inteiramente em dezacordo com o que se sabe hoje de carcinoma. Além disso, epitelioma e carcinoma são sempre tumores malignos. Assim, pensamos de preferencia que, quando se lê na maior parte dos livros modernos, que é impossivel fazer o diagnostico histolojico entre corio-epitelioma benigno e maligno, o autor se refere á dificuldade que existe ou mesmo a impossibilidade de saber, si uma mola será ou não complicada de corio-carcinoma pelo exame histolojico das hidatides. E então trata-se de uma confuzão entre mola e corio-carcinoma que já procurámos desfazer. Com essa dificuldade de diagnostico estamos completamente de acordo.

Ainda se lê frequentemente que, si o cirurjião em cazos especiais de aborto ou mola, remete o material de raspajem uterina ao anatomo-patolojista, para saber si se trata de possivel complicação de corio-carcinoma, este não lhe póde dar opinião deciziva, e conclui que os tecidos da mola, do corio-epitelioma e do corion normal sejam identicos porque não se póde, entre eles fazer diagnostico histolojico.

A primeira parte da afirmação é verdadeira só em cazos muito especiais se póde fazer, em material de raspajem uterina, o diagnostico entre mola, corion normal e corio-epitelioma. Mas não é porque os tecidos dessas formações sejam identicos, e sim porque o material colhido desta fórma, mostra-

se histolojicamente modificado ou insuficiente para o diagnostico. Não se pode nele mais estudar a estrutura, a organização, a arquitetura celular, as relações que as celulas guardam entre si, unica caracteristica indispensavel para saber em cada cazo, si essas celulas estão constituindo uma das trez formações citadas. O que se pode reconhecer com segurança, em um material assim colhido, são as celulas de *Langhans;* mas estas entram indiferentemente na formação da mola, do corion normal e do corio-epitelioma. Para distinguir em um cazo particular se constituem uma dessas formações, é precizo que se examinem as relações que elas guardam entre si e com os tecidos vizinhos no caso em questão, e é esse elemento que o material de raspajem não fornece ao anatomo- patolojista.

A maior parte das celulas de *Langhans;* de um corio-arcinoma são inteiramente identicas ás celulas de *Langhans* da mola ou do corion normal; do mesmo modo que a maior parte das celulas de um adeno-carinoma são identicas ás celulas epiteliais de um adenoma ou ás da glandula á custa das quais se forma um ou outro tumor.

Estes fatos, lonje de subtrairem a mola e o corio-arcinoma ás regras gerais hoje aceitas na classificação dos tumores, ao contrario, mostram que aquelles tumores obedecem a essas regras.

Modernamente, cada vez menos se pretende fazer o diagnostico diferencial dos tumores pela celula tumoral, pela unidade histolojica da formação, e cada vez mais se procuram estabelecer as leis que rejem as relações das celulas entre si nos tumores e nos tecidos normais. No maior numero de cazos a celula tumoral é identica á celula normal.

O que se passa com esses tumores placentarios é o que acontece com os demais tumores. Com efeito, si se remeter ao anatomo-patologista um acino glandular ou algumas celulas de uma formação para que emita sua opinião afim de saber si é um tumor, ele responderá que se lhe mande mais tecido, para poder estudar a relação que as celulas e acinos guardam entre si e com os tecidos vizinhos. Assim acontece com os tumores em questão; si em vez de material de raspajem, se envia ao anatomo-patolojista um bom fragmento de tecido por biopsia do utero, ele dirá com segurnção, si se trata de mola, corion normal ou corio-arcinoma.

Depois do que ficou acima exposto, pretendiamos mostrar, de acordo com os dados anatomo-patolojicos e clinicos, como deve proceder um ginecolojista para ter maiores probabilidades de acertar, em prezença de um cazo de mola hidatiforme. Vejamos os dois aspetos mais comuns com que se aprezentam estes cazos:

Uma mulher, que se supõe gravida sangra com certa abundancia e frequencia: ou o parteiro a medica e neste tempo ela expele expontaneamente uma mola, ou rezolve esvaziar o utero e encontra a mola.

Neste cazo parece-nos que a primeira couza a saber é a idade da doente; si sua idade orça pelos 41 anos ou mais e ela não se opõe á extirpação do utero, o melhor que o parteiro tem a fazer é propor-lhe a extirpação total do orgam. Quando a doente mostra signais de metastazes, antes de querer saber a idade, é precizo, sem perda de tempo, fazer a histerectomia, sem querer saber si ha corio-epitelioma benigno e maligno e si a mola produz ou não metastazes, considerações estas que podem fazer a doente correr serios riscos de perder a vida.

Si porém não ha signais de metastazes, nem simtomas gerais graves (albuminuria, anemia profunda, vomitos, etc.), nem ha hemorrajias profuzas e a doente está entre os 18 e 40 anos, já ha uma certa dificuldade em escolher a

terapeutica mais proveitoza, principalmente tendo em vista que na Kiel Klinik, em 20 cazos de mola, apenas dois foram complicados de corio-carcinoma.

KEHRER acompanha a historia de 50 cazos e nenhum deles foi acompanhado de corio-carcinoma; SENARCLENS, citado por POLLOSSON e VIOLET, observou 42 cazos de mola, em que só 3 foram seguidos de corio-carcinoma, etc.

Como se vê, depois da mola é possivel á doente conservar o utero integro, e são comuns as observações de mola seguidas por parto a termo inteiramente normal. Deve-se nesses cazos, remeter ao anatomo-patolojista o material extirpado ou expelido espontaneamente. Quando o cirurjião faz curetajem, deve-se procurar examinar, histolojicamente de preferencia, os tecidos raspados da parede do utero. Si se obtem no material de raspajem, um fragmento que corresponda ao que se obtem por biopsia, o diagnostico se torna naturalmente facil; mas isso deve acontecer raramente, porque, em geral, o cirurjião raspa muito moderadamente um utero com mola, e ele sabe bem porque assim procede. Mas, mesmo entre as hidatides, sobretudo as menores, é precizo estudar cuidadozamente as camadas de celulas epiteliais e si encontra o anatomo-patolojista os sincitios e, sobretudo, as celulas de *Langhans* exajeradamente hiperplaziadas em torno de uma vilozidade, algumas vezes abandonando a vilozidade para formar ilhotas esparsas de celulas epiteliais e estas sem guardarem suas relações normais (qualquer couza assim como se vê na Fig. 8), pensamos que o patolojista tem o direito, sinão de fazer o diagnostico de corio-carcinoma, pelo menos, de aconselhar a pan-histerectomia.

Assim é que o parteiro só póde esperar do laboratorio uma das duas seguintes respostas:

1) faça-se a histerectomia, 2) não se póde saber pelo exame do material si ha ou não probabilidades de complicação da mola pelo corio-carcinoma. Infelizmente esta ultima resposta é a mais frequente e nesses cazos o cirurgião fica á mercê apenas dos sintomas clinicos.

Para rezolver este ultimo cazo, de resto o mais comum, tomamos a liberdade de transcrever aqui o criterio de VINEBERG, conforme se lê em seu artigo «Clinical data on chorio-epitelioma with end-results of operative treatment». Neste artigo ele estuda 8 cazos de mola seguidos de corio-carcinoma e o material anatomo-patolojico é muito bem descrito por MANDLEBAUM, anatomo-patolojista do Mt. Sinai-Hospital.

VINEBERG aconselha, no ultimo cazo por nós figurado, fazer uma colpotomia, seguida de histerotomia anterior, e assim retirar toda a mola da cavidade uterina e ao mesmo tempo examinar a cavidade, afim de verificar si ha algum sinal de corio-carcinoma. Vejamos a descrição resumida de um de seus cazos, para que os cirurjiões possam melhor ajuizar:

"Uma doente de 26 anos, havia abortado 6 semanas antes de ser por ele examinada; por ocazião do aborto fóra curetada. Alguns dias depois continuou a sangrar, pelo que foi novamente curetada e o material examinado pelo anatomo-patolojista, que respondeu tratar-se de um cazo suspeito de corio-epitelioma, sem que podesse afirmar, porque no material examinado não havia miometrio. Entretanto, a doente continuava a sangrar, pelo que consultára VINEBERG. Atendendo sua idade, o cirurjião fez-lhe a histerotomia, esvaziou o utero e como não constatasse sinal macroscopico de corio-epitelioma, suturou a ferida. A doente, observada 3 mezes apóz, mostrava magnifico estado de saude, tendo sido menstruada normalmente."

HITSCHMANN e CRISTOFOLETTI

concordam com o modo de proceder de VINEBERG, apenas preferem a via abdominal para a histerotomia, por motivos que não nos importa relatar aqui.

Queriamos aventar, e ao mesmo tempo perguntar: sendo essa pratica de VINEBERG aceitavel, sobre o que não nos compete opiniar, si não seria possivel, no momento da histerotomia, fazer uma biopsia da parede uterina? O anatomopatolojista teria então material nas melhores condições para responder com segurança si se tratava de corio-carcinoma.

Entretanto, VINEBERG não recorre sempre á histerotomia para tratar a mola. Nos ultimos oito cazos de mola descritos no artigo acima citado, fez sistematicamente a raspajem uterina, e si a doente apóz essa intervenção voltava a sangrar, praticava então a histerectomia. Em todos os cazos houve um intervalo de tempo entre as duas intervenções em que as doentes passaram bem; em todas houve, porém, sempre novas hemorrajias e foi, por isso, praticada a pan-histerectomia. Essas doentes, VINEBERG curou-as todas. Parece que a raspajem não tendo curado nenhuma de suas doentes, VINEBERG deveria agora aconselhar sempre a histerectomia nos cazos de mola. Entretanto, assim não o faz, tendo em vista naturalmente a percentajem, relativamente consideravel na literatura, de cazos de mola que não foram complicados de corio-carcinoma.

Durante todo o decorrer d'estas lijeiras considerações viemos repetindo a expressão corio-carcinoma para designar estes tumores, sem justificar essa escolha, que nos parece a mais lejitima.

Corio indica a localização da nova-formação, e *carcinoma* traduz aproximadamente a sua estrutura e evolução; portanto são duas palavras bem significativas. Carcinoma é modernamente a rubrica sob a qual estão compreendidos todos os tumores epiteliais malignos. Os carcinomas se dividem em epiteliomas, tumores de celulas epiteliais chatas e carcinomas propriamente ditos, de celulas epiteliais altas. Assim parece inteiramente justa e cabivel a expressão carcinoma para especificar os tumores constituidos á custa das celulas epiteliais das vilozidades coriais. Mesmo não querendo considerar essas celulas como epitelio alto, deve-se ainda denominar essas nova-formações carcinomas, pois, como já dissemos, esse é o termo generico para indicar todos os tumores malignos epiteliais. A expressão epitelioma compreende apenas os tumores formados á custa de epitelio chato pavimentozo, que não é o cazo do epitelio corial.

Vejamos os termos menos uzados de que se têm servido alguns autores para dezignar o corio-carcinoma.

SAENGER, 1888, introduziu a expressão *deciduoma*. Pensava esse autor que o corio-carcinoma rezultava da hiperplazia das celulas deciduais da placenta. Mas estas celulas são de natureza conjuntiva e por isso foi esse termo posto á marjem e limitado aos raros cazos de neoplasma de celulas deciduais da placenta materna, emquanto o corio-carcinoma se fórma á custa das celulas epiteliais da placenta fetal. *Trofoblastoma*, é expressão mais restrita que a anterior, pois só compreende os tumores de trofoblastos (sincitios e celulas de *Langhans*), entretanto não contém em sua significação nem a forma das unidades histolojicas, nem a evolução provavel da neoplazia. O termo *sincitioma* sobre ser muito restrito, presupõe uma noção que não é verdadeira, a formação do tumor pelos sincitios quando nele sobrepujam as celulas de *Langhans*.

Por fim corio-epitelioma maligno, por MARCHAND, cujos defeitos já apontámos.

A expressão corio-carcinoma foi pe-

la primeira vez, ao que parece, uzado por EWING, no seu tratado «Neoplastic Desease», sem justificar sua preferencia pretendendo apenas especificar melhor o que ele chama corio-adenoma.

Foram estes os motivos que nos pareceram suficientes para lejitimar esta escolha. Não é intento nosso, com a prezente justificativa, levantar, ao lado de assuntos tão mais importantes, uma questão bizantina de terminolojia, mas sim procurar adotar uma denominação que contenha os caracteres do tumor, conforme o criterio da classificação moderna dos blastomas, o que é indispenvel para a bôa e completa interpretação clinica das indicações anatomo-patolojicas.

Para terminar as considerações relativas á prezente observação, pretendiamos nos referir, ainda que lijeiramente, ás metastazes e á malignidade dos corio-carcinomas.

E' sabido que os corio-carcinomas se complicam de metastazes a distancia, o que não é de extranhar como carcinomas que são. Essas metastazes aparecem no figado, no rim, no baço, no coração (BUSSE) e até mesmo no cerebro (KREWER); mas, de preferencia, se assestam no pulmão e na vajina.

As metastazes seguem a via venosa e não a linfatica, como nos demais carcinomas. As celulas do corio-carcinoma têm a faculdade especial de destruir a parede das veias e penetrar até á luz do vazo; aí se destacam celulas que encontram caminho facil, atravez o sistema venoso, até o coração direito e, pela pequena circulação, atinjem o pulmão, onde são retidas pela peneira capilar dos alveolos e então dezenvolvem a metastaze. Para chegar á vajina as celulas tumorais tomam o caminho retrogado da veia vajinal.

As metastazes se constituem e crescem rapidamente, como não acontece em nenhum outro tumor maligno, ameaçando seriamente a vida do portador, que pode vir a falecer em alguns dias, si não se tomam providencias terapeuticas enerjicas. São conhecidas as hemoptizes graves nos cazos de metastazes pulmonares.

Portanto, são as metastazes tumorais mais graves que se conhecem, no que diz respeito á precipitação com que se formam e por levarem o doente em poucos dias á eminencia da morte.

Nos demais tumores, a gravidade das metastazes está, principalmente, na sua localização, provocando mecanicamente perturbações. Além disso, formam um outro tumor que com o primitivo mais rapidamente levam o doente á caquexia.

No corio-carcinoma, a metastaze é grave porque faz sangrar o parenquima onde se assesta e provoca sintomas agudos de intoxicação: vomitos, delirio, dispnéa, febre, albuminuria, etc.

Até antes de falar em metastaze, conseguimos manter uma analojia quasi perfeita entre o corio-carcinoma e os demais tumores epiteliais malignos; daqui por diante, entretanto, no estudo de sua evolução, diferenças os separam nitidamente, embora a estrutura guarde a mesma semelhança. Mesmo antes do aparecimento das metastazes, o proprio corio-carcinoma já por si só provoca os mesmos sintomas descritos para as metastazes.

Estas metastazes, assim tão mais graves que qualquer outra por sua evolução rapida e pelos sintomas gerais que as acompanham, são as que mais facil e comunmente regridem a ponto de dezaparecerem, como não acontece a nenhuma outra metastaze tumural.

Com efeito, tem sido observado inumeras vezes que, apóz a histerectomia em cazo de corio-carcinoma com metastazes, estas dezaparecem totalmente. E' um fato confirmado por inumeros observadores: ROCKAFELLOW, VON FLEICHMAN, NEUMANN, KELLY, TEACHER, RISEL, EDEN, LOCKYER e mesmo MARCHAND. De todos, o cazo mais interessante é o de HITSCHAM-

ANN e CRISTOFOLETTI, em que as metastazes do corio-carcinoma haviam tomado grande parte da vajina, da bexiga e parede pelviana; depois da panhisterectomia as metastazes regridiram havendo reconstituição *ad integrum* dos tecidos atinjidos. Essa doente foi observada durante 7 anos, sem que se podesse perceber o menor sinal de tumor.

Assim, cada vez mais, no que diz respeito á evolução, os corio-carcinomas se diferenciam dos carcinomas em geral. Para estes ultimos tumores, a prezença de metastazes acentua a malignidade do tumor, obscurece o prognostico e contra-indica a intervenção cirurjica. Nos corio-carcinomas a prezença de metastazes indica sempre pan-histerectomia imediata.

Como já vimos, o corio-carcinoma apezar de ser um tumor epitelial, suas metastazes se fazem por via venoza.

No cazo do Dr. CAMILLO BICALHO é interessante que a regressão das metastazes, (que assim pareciam ser pelo menos clinicamente) ocorreu depois da raspajem; isso parece mostrar que não é prezizo remover todo o tumor primitivo, basta aliviar o organismo de grande parte dele para que desapareçam, talvez em parte, as metastazes.

Pelo estudo da forma particular, da malignidade e do modo de comportar das metastazes nos corio-carcinomas, estão hoje estabelecidas certas conclusões para a clinica ginecolojica.

De acôrdo com os melhores autores, têm-se como definitivas as seguintes conclusões:

1º) a prezença de metastazes indica pan-histerectomia imediata, sem intervenção sobre as proprias metastazes;

2º) toda vez que depois da mola, passados dias ou mezes, uma doente volta novamente a sangrar sem explicação facil, deve-se fazer a pan-histerectomia.

3º) não se deve fazer o *Wertheim* por isso que as metastazes não se fazem pela via linfatica.

Emquanto as metastazes dos corio-carcinomas, na mulher, regridem facilmente apóz a extirpação do tumor primitivo, as metastazes do corio-carcinoma no homem, (teratomas coriais), não têm a menor tendencia a regredir nas mesmas condições.

Estas ultimas se comportam como as demais metastazes dos carcinomas em geral, e se dezenvolvem de modo autonomo sem depender em nada do tumor primitivo. Com efeito, EWAL FRITZE estuda, em seu trabalho "Beitrage zur Kenntnis der Chorion epitheliome ber Männern, Zeitschrift für Krebsforschung" 30 cazos de corio-carcinoma no homem e mostra o insuccesso das intervenções e a independencia com que se dezenvolvem as metastazes. A diversidade da sorte destas metastazes no homem e na mulher chama naturalmente atenção por ser, até certo ponto, parodoxal.

Por outro lado, é prezizo pensar que o corio-carcinoma materno é o unico tumor formado á custa de celulas que não pertencem propriamente ao portador da nova-formação. Com efeito o corion faz parte da placenta fetal. Portanto, as celulas do corion que constituem o tumor pertencem ao novo organismo. Em face deste modo de consisiderar, ocorre logo a ponderação que o novo organismo é em tudo identico ao organismo materno, pois é á custa deste que aquele se forma. A celula materna é o ovulo, que pela fecundação se transforma no ovo sofrendo assim modificações radicais na sua estatica e dinamica. Parece, á primeira vista, que as modificações devam ser muito lijeiras pois o embrião se nutre á custa do organismo materno. Mas quando se pensa na influencia pezada da herança paterna nos novos seres concebidos no organismo materno, tem-

se como fóra da duvida que o embrião é, na mesma especie, um novo individuo já de constituição diferente.

Assim parece que no corio-carcinoma da mulher, ha introdução de celulas extranhas ao organismo. Si estas celulas não são totalmente diversas, são o suficiente, em face da especificidade celular, para determinar a formação no novo organismo de anticorpos, fermentos. E nesse fato ter-se-ia a explicação facil da regressão das metastazes dos corio-carcinomas na mulher. Por que as metastazes só são dezintegradas pelos fermentos depois da extirpação do tumor primitivo, não faltam interpretações lojicas. Entretanto é melhor não continuar a enjendrar hipotezes que não constituem elementos de demonstração para os fatos biolojicos. As hipotezes lojicas em biolojia servem apenas para justificar experiencias que as verifiquem.

Uma vez demonstrado que as celulas coriais introduzidas no organismo materno, quando constituido os corio-carcinomas, determinam a formação de fermentos, percebe-se-ia logo o motivo porque as metastazes desses tumores epiteliais malignos não conseguem se dezenvolver, apezar de gozarem das mesmas propriedades dos demais tumores dessa natureza. E como nos corio-carcinomas do homem as celulas do tumor pertencem ao proprio portador, não ha formação de anticorpos e por isso, as metastazes perduram e se dezenvolvem apezar da extirpação do tumor primitivo.

Rio, 25 de Julho de 1921

Alvares Penna.

Explicação das estampas.

Estampa 13

Fig. 1—Aspeto macroscopico das vilosidades coriaes na mola.

Estampa 14

Fig. 2—Aspeto microscopico das vilosidades coriaes na mola.

Fig. 3—Utero com corio-carcinoma visto de frente.

Fig. 4—A mesma peça da Fig. 3 vista de perfil.

Estampa 15

Fig. 5—Vê-se nessa microfotografia a estrutura microscopica do corio-carcinoma com hiperplasia e alteração das celulas de Langhans fóra da vilosidade.

Fig. 6—Fibras musculares do miometrio com degeneração hialina em A.

Estampa 16

Fig. 7—Córte do miometrio visto com forte aumento: *a* celulas de Langhans; *b* sincitios; *c* fibras musculares normaes; *d* fibras musculares degeneradas.

Fig. 8—Córte de vilosidade corial visto com forte aumento: *a* sincitios em hiperplasia; *b* celulas de Langhans hiperplasiadas.

Alterações histopathologicas da medulla ossea na immunisação para obtenção de agglutininas.

por

C. MAGARINOS TORRES

I—Introducção e historico

II—Material e methodos de pesquiza.

III—Estudo histopathologico da medulla ossea.

IV—Conclusões.

(Com as estampas 17—22).

Resulta de trabalhos realizados nestes ultimos annos, que a séde de producção dos anticorpos deve ser localisada nos orgãos hematopoéticos, medulla ossea, baço e ganglios lymphaticos.

Assim a curva de producção de varios anticorpos é alterada quando, no animal em via de immunisação, são provocadas lesões desses orgãos, pela applicação dos raios X, do benzol, do thorio X, etc. Por outro lado, substancias que estimulam os orgãos hematopoéticos, como a arsacetina, o salvarsan, determinam um augmento notavel da concentração de anticorpos no sôro, sem introducção de nova quantidade de antigeno. Tambem fragmentos de baço e medulla ossea, cultivados fóra do organismo, mostram-se capazes de elaborar anticorpos.

Parece que, cada anticorpo em especial, é produzido por um determinado orgão hematopoético; assim, as agglutininas são produzidas principalmente pela medulla ossea, a qual, porém, não é o orgão destinado á elaboração das hemolysinas.

E' impossivel decidir, por emquanto, qual o papel que outros orgãos, particularmente o figado e as glandulas de secreção interna, desempenham na elaboração dos anticorpos, tão contraditorios os resultados das pesquizas a respeito. E' provavel que as glandulas de secreção interna (em especial as glandulas thyreoide e parathyreoide) não sejam orgãos propriamente productores de anticorpos, mas que exerçam apenas uma influencia indirecta ou reguladora sobre a concentração dos anticorpos no sôro.

Quasi todos os trabalhos são muito pobres de informações sobre as alterações histopathologicas dos orgãos hematopoéticos, preoccupando-se exclusivamente com o lado physiologico, por assim dizer, da questão. A actividade da medulla ossea, expressa na capacidade de produzir anticorpos, é a parte estudada.

A natureza complexa da questão da origem dos anticorpos só póde justificar o interesse de pesquizas histopathologicas, as quaes poderão constituir uma base solida para argumentação.

São poucos os trabalhos que na rica literatura sobre immunidade, encontramos tratando directamente da questão.

GUERRINI (1903). immunisando ratos com culturas em caldo de *B. murisepticus*, verificou que as alterações histologicas vistas nos pulmões, coração, rins e systhema nervoso algumas horas após as injecções da substancia immunisante, nada apresentam de caracteristico, sendo identicas ás observadas em todas as intoxicações; as lesões das capsulas suprarenaes, figado, baço e medulla ossea, porém, mostram, além disso, outras alterações, a saber: nas capsulas suprarenaes e no figado, turgescencia dos nucleos e desagregação da chromatina, no baço e na medulla ossea, numerosas cellulas grandes, de nucleo polymorpho.

GAY e RUSK (1913) immunisaram coelhos por meio de repetidas injecções intravenosas de globulos de cobaya lavados, os quaes, após um repouso de duas ou mais semanas, eram novamente injectados com globulos lavados recentes. Fizeram um estudo histologico cuidadoso dos orgãos dos animaes sacrificados successivamente após 1, 4 e 24 horas e 4 e 6 dias de inoculação, procurando demonstrar uma evidencia de actividade funccional em determinadas cellulas que seriam as encarregadas da formação de anticorpos. A unica alteração que constataram, sobre cuja significação, aliás, permanecem em duvida, foi um augmento notavel de glycogenio no figado do animal de 24 horas.

METALNIKOW e GASCHEN (1922) estudaram os phenomenos de immunidade nos invertebrados (larvas de *Galleria)* e principalmente as modificações do sangue; existe, a principio, uma reacção dos differentes leucocytos e phagocytos em seguida, uma reacção phagocytaria; vem em terceiro lugar, uma leucolyse e phaglyse que põe em liberdade fermentos intracellulares e anticorpos; um pouco mais tarde, ha uma reacção das cellulas espherulosas que parecem desempenhar papel importante na immunidade; finalmente observa-se a formação de cellulas gigantes e de capsulas. Pensam que a immunidade e o resultado de uma reacção muito complicada de differentes cellulas do organismo, reacções especificas para cada microbio injectado.

SESTINI (1922) notou uma hyperfuncção da glandula thyreoide nas cobayas immunisadas *(B. typhico)*, a qual morphologicamente se traduz não só por um augmento de lipoides, de granulos fuchsinophilos e modificações da substancia colloide, como tambem por modificações das cellulas do epithelio thyreoideo vesicular e intervesicular: um verdadeiro estado de struma hyperplastico teleangectoide.

Informações indirectas, porém, sobre as alterações histopathologicas dos orgãos hematopoéticos na immunidade nos fornecem os trabalhos de FOÀ (1889), DOMINICI (1900), LENGEMANN (1901), MUIR (1901), LONGCOPE (1915), EVANS (1916), etc., que se occupam com as alterações daquelles orgãos nas diversas infecções e com a producção de leucocytos na leucocytose.

Historico.

As hypotheses sobre a origem dos anticorpos podem ser resumidas nas seguintes proposições que encerram as ideias dominantes dos diversos pesquizadores:

1º) Todas as cellulas do organismo tomam parte na formação dos anticorpos; o protoplasma cellular é a séde de producção dos anticorpos. Como corollario, temos a opinião segundo a qual muitos tecidos podem produzir, localmente, anticorpos.

E' por demais conhecida a hypothese fundamental de EHRLICH, segundo a qual todas as cellulas do organismo tomariam parte na formação dos anticorpos. A producção local de anticorpos constitue uma questão que os primeiros pesquizadorês (ROMER, v. DUNGERN, WASSERMANN e CITRON) resolveram pela affirmativa, mas que trabalhos posteriores vieram abalar fortemente e indicar uma solução justamente opposta. Assim HEKTOEN (1911) effectuou experiencias cujos resultados não fallam a favor de uma producção local de anticorpos especificos em cães injectados com hematias de rato e cabra, pelo menos no que diz respeito aos seguintes tecidos: camara anteiror do olho, tecido pleural e tecido cellular subcutaneo. A injecção de globulos vermelhos de rato ou cabra na camara anterior do olho de cães é seguida pelo apparecimento de anticorpos especificos no sangue e commumente no humor aquoso. A concentração de anticorpos é maior no humor aquoso do olho injectado, mas, em ambos os olhos, muito menor que no sangue; os anticorpos não apparecem primeiramente no humor aquoso e sim no sangue. A injecção de hematias de rato ou cabra na cavidade pleural de cães é seguida

pelo apparecimento de anticorpos especificos no sangue e no exsudato pleural provocado pela injecção de aleuronato; a concentração no exsudato pleural não é maior que no sangue, e, muitas vezes é menor, sendo a concentração no sangue um pouco menor aqui do que após a injecção intravenosa da mesma quantidade de antigeno; não ha differença na relação entre o conteúdo de anticorpos do sangue e do exsudato pleural em cães recebendo o antigeno na cavidade pleural e em cães recebendo o antigeno por via intravenosa. Cães inoculados por via subcutanea ao nivel da perna anterior com hematias de rato e cabra, cujo membro inoculado foi amputado nas primeiras phases de producção de anticorpos, não mostram um conteúdo do sangue em anticorpos inferior ao de outros cães nos quaes esses tecidos não foram retirados. Tambem se os anticorpos fossem produzidos localmente no sitio da injecção do antigeno no tecido cellular subcutaneo, seria razoavel esperar que injecções subcutaneas do antigeno em muitos lugares augmentassem a producção de anticorpos, o que não foi verificado por experiencias dirigidas nesse sentido.

ZINSSER (1918) parece inclinado a admittir que a formação de anticorpos não é funcção de orgãos especiaes, muitas cellulas do corpo podendo tomar parte no processo; essa opinião é, sobretudo, baseada nas experiencias de immunidade local de WASSERMANN, CITRON e RÖMER, as quaes, como vimos, foram posteriormente contestadas.

Recentemente OSHIKAWA (1921) conseguiu pela transplantação da pelle de coelhos activamente immunisados para coelhos normaes, verificar nestes ultimos, a formação de anticorpos. Os protocollos de suas experiencias mostram que essa formação de anticorpos é muito pouco pronunciada; assim, em duas experiencias, o titulo do sôro agglutinante nos coelhos onde fez a implantação da pelle, não foi além de 1/10, ao passo que, em uma dellas, o titulo do sôro do coelho que forneceu os fragmentos de pelle era igual a 1:640 (immunisado com *B. Paratyphico B)*; em outras experiencias, o sôro do coelho que recebeu os fragmentos de pelle apresentou o titulo de 1:160 no fim de 9 dias (immunisação com o *Proteus*). Achamos que a concentração de agglutininas obtida no sôro dos coelhos em que fez a transplantação da pelle é muito fraca para permittir affirmações categoricas; é preciso não esquecer que os orgãos hematopoéticos, particularmente a medulla ossea do coelho, são muito sensiveis a alterações pathologicas, sendo muito plausivel que a operação de transplantação da pelle tenha influido, só por si, sobre o conteúdo de anticorpos do sangue; a operação teria exercido uma acção semelhante á da injecção de peptona ou de uma substancia irritante da medulla ossea.

2º) Os anticorpos são produzidos especialmente por algumas cellulas do organismo, particularmente pelos leucocytos do sangue.

METCHNIKOFF (1887) emittio a ideia de que as substancias bactericidas do sôro poderiam ser de origem leucocytaria.

BORDET (1895), seguindo essa orientação, verificou que o sôro possue um valor preventivo maior que o plasma (o qual é pobre de leucocytos), concluindo que os leucocytos desempenham parte importante na producção das substancias protectoras.

GRUBER (1897) suggeriu que os polymorphonucleares formam as agglutininas, o que é demonstrado falso pelas experiencias de ACHARD e BENSAUDE e WIDAL e SICARD, PASTSCH e KRAUS e SCHIFFMANN.

No caso das antitoxinas, pensou-se que as cellulas particularmente atacadas pela toxina eram justamente as productoras do anticorpo; exemplo disso, as ideias de WASSERMANN e TAKAKI sobre a formação da antitoxina tetanica pelas cellulas nervosas, logo reconhecidas falsas por METCHNIKOFF e MARIE.

v. DUNGERN (1902) achou que as cellulas do sangue tomam parte na formação das precipitinas.

KRAUS e LEVADITI (1904) dosando as precipitinas nos orgãos de animaes immunisados, verificaram que, ide todos os orgãos estudados, só o epiploon fornece extractos capazes de precipitar de modo intenso, o sôro de cavallo, isso em um momento em que o sôro do animal preparado não é absolutamente precipitante; como o epiploon é a séde de um accumulo notavel de globulos brancos, concluem que estas cellulas são a principal fonte de origem desses anticorpos.

KRAUS e SCHIFFMANN (1906) constataram que coelhos que soffreram a splenectomia produzem tão bem sôros precipitantes como os animaes normaes; acham que as precipitinas não se formam nos orgãos, mas no systema vascular, sendo que, além do epiploon, nenhum outro orgão nos animaes immunisados, contem, antes do sôro, substancias precipitantes.

Os mesmos auctores (1906) verificaram que as agglutininas podem apparecer em proporção apreciavel no sôro sem existirem simultaneamente nos extractos de orgãos; quando nelles existem, tem concentração sensivelmente inferior á do sangue; a medulla ossea encerra quantidade maior de agglutininas que o baço e ganglios lymphaticos.

STENSTRÖM (1911) inoculando leucocytos polymorphonucleares juntamente com o antigeno *(B. typhico)* observou uma baixa na formação de agglutininas; baseado nesse facto conclue que os leucocytos podem ser considerados ou como formadores de agglutininas ou como favorecendo o processo de modo indirecto.

FONSECA (1912) acha que aos lymphocytos cabe o papel principal na reacção geradora dos anticorpos, fundamentando a sua hypothese no facto de que "os organismos atacados por infecções que conferem um grau mais ou menos elevado de immunidade, manifestam, geralmente, na contagem especifica uma porcentagem accentuada de lymphocytos."

BACHMANN (1918—1919) mostrou que os leucocytos dos animaes immunisados adquirem uma propriedade especifica importante que permitte proteger a cobaya quando inoculados no peritoneo juntamente com *B. typhico*, conseguindo o auctor isolar dos leucocytos os productos que lhes conferem essa propriedade.

Os resultados das experiencias de LEVADITI e BANU (1920) são contrarios á formação local de agglu-

tininas no tecido cellular subcutaneo; assim o processo inflammatorio e edematoso que constitue a lesão local quando se injecta uma emulsão de *B. typhico* com gelatina e mercurio colloidal não influencia de modo favoravel mas sim prejudica a formação de anticorpos agglutinantes.

TISCORNIA (1921) verificou que extractos de leucocytos de cobayas immunisadas contra o *B typhico* inoculados no peritoneo de cobayas juntamente com uma dose mortal minima de cultura de *B. typhico*, tinham uma acção protectora nitida. Conclue de suas experiencias que durante uma phase da immunisação os leucocytos, e, especialmente os neutrophilos, intervem na producção ou na modificação de substancias cellulares especiaes com propriedades immunisantes especificas. Essas substancias são bem demonstradas quando libertadas dos leucocytos de um modo brusco e violento, mas provavelmente no sangue circulante, são secretadas em uma certa quantidade. Deduz-se que durante uma reacção immunitaria, uma leucocytose significa augmento de producção dessas substancias leucocytarias especiaes immunisantes, e, a sua apparição é mais rapida e intensa na circulação devido á leucolyse consequente a toda leucocytose.

METALNIKOW e GASCHEN (1922) attribuem papel importante na formação dos anticorpos nos invertebrados (larvas de *Calleria*) a diversas cellulas do sangue do insecto.

ROBERTSON e ROUS (1922) asseveram a existencia de agglutininas intracellulares nos globulos vermelhos do coelho, sendo ellas facilmente demonstraveis nos extractos aquosos de globulos seccos.

4º) Os anticorpos são formados pelos orgãos hematopoéticos.

PFFEIFER e MARX (1898), dosando simultaneamente os anticorpos bactericidas no sôro e em extractos de leucocytos, demonstraram que nenhum excesso de anticorpos encerravam os extractos de leucocytos comparados com o sôro, e verificaram, ao mesmo tempo, um notavel accumulo de anticorpos em determinados orgãos do coelho (baço, medulla ossea, ganglios lymphaticos, e, em menor escala, o pulmão) durante os primeiros dias de immunisação. O baço encerrava, já no decurso do 2º dia de immunisação, uma quantidade apreciavel de substancias protectoras contra o cholera, embora o sangue não mostrasse indicio algum de uma alteração especifica. Acharam que os orgãos hematopoéticos constituem o ponto de origem dos anticorpos, representando o excesso de anticorpos concentrado naquelles orgãos, simplesmente um excesso de producção, o qual não é acompanhado de uma eliminação igualmente rapida para o sangue.

DEUTSCH (1899) verificou que a splenectomia precedendo a injecção immunisante, não impede a formação de agglutininas; feita 3-5 dias após a injecção, impede nitidamente a formação dos anticorpos.

v. EMDEN (1899). immunisando coelhos com *B. aerogenes* e pesquizando agglutininas no sôro e em extractos de diversos orgãos, verificou que os extractos de baço possuem, ás vezes, um titulo agglutinante maior que o do sangue; a producção de agglutininas é prejudicada pela splenectomia, mas, apezar disso, se effectua; assim sendo. admitte que, além do baço, outros orgãos, particularmente os orgãos lymphoides, são capazes de elaborar agglutininas.

WASSERMANN (1899) estudou a acção do sôro e de extractos de diversos orgãos de coelhos immunisados com pneumococcos virulentos sobre a marcha da infecção pneumococcica experimental. Os extractos de medulla ossea apresentaram um conteúdo de anticorpos maior que o de qualquer outro orgão, e, nos estadios iniciaes de immunisação, o poder protector dos extractos de medulla ossea e dos orgãos hematopoéticos excedia o do sôro. Acha que a medulla ossea representa o sitio de producção dos anticorpos e que, os ganglios lymphaticos, o thymo e o baço, são apenas rerervatorios dos mesmos.

JATTA (1900) verificou que o titulo agglutinante *(B. typhico)* dos extractos de baço, entre o 2º e o 4º dia de immunisação, é notavelmente maior que o do sangue, sendo igual a este no fim do 4º dia, e consideravelmente inferior no fim de 8 dias.

HEKTOEN (1909-10) assignala que a assymetria das curvas de producção dos diversos anticorpos no mesmo animal, suggere que se trate de substancias distinctas, cuja producção depende de um mechanismo semelhante, mas não identico.

LIPPMANN (1911), após immunisar coelhos por meio de inoculações repetidas de culturas mortas de *B. typhico*, deixou-os em repouso pelo espaço de 4 mezes, durante os quaes o titulo agglutinante do sôro baixou progressivamente até um titulo médio constante; injectou-os então, por via subcutanea, com 0gr.1 de arsacetina, substancia cuja influencia estimulante sobre os orgãos hemapoéticos é bem conhecida e aproveitada no tratamento da anemia. Verificou uma elevação rapida do titulo de agglutininas após essa injecção, a qual attingio o seu maximo no fim de 6-9 dias.

HEKTOEN (1916) verificou uma reducção da formação de anticorpos nos animaes intoxicados pelo benzol associada a graves lesões da medulla ossea, a leucopenia e outras alterações caracteristicas da intoxicação pelo benzol, havendo tambem reducção do poder phagocytario dos leucocytos. No cão, pequenas doses de benzol, as quaes produzem leucocytose, augmentam a producção de lysinas para os globulos vermelhos da cabra.

O benzol actua sobre os elementos que elaboram os anticorpos e *os centros leucocytogenicos participam desta elaboração*. Isso é demonstrado, no coelho, pela reducção da quantidade dos anticorpos e do numero dos leucocytos. a qual não occorre quando o benzol é administrado no momento em que a producção de anticorpos está proximo do seu maximo; no cão, pelo augmento da formação de lysinas, o qual é acompanhado de uma leucocytose.

CARREL e INGEBRIGTSEN (1912) verificaram que fragmentos de medulla ossea e ganglios lymphaticos cultivados fóra do organismo, são capazes de produzir anticorpos (hemolysinas).

LÜDKE (1912) verificou a producção de agglutininas e hemolysinas na medulla ossea e fragmentos de baço retirados de coelhos e cobayas 24, 48 e 60 horas após a injecção intravenosa de culturas mortas de *B. typhico* e *dysenterico*, e conservados asepticamente em agua physiologica, solucção de Ringer e sôro normal de coelho e cobaya, a 37º—40º. No 5º dia de cultura, a emulsão de baço agglutina até 1:160 e a de medulla ossea até 1:320. Inoculando directamente a medulla ossea, sacrificando o animal no fim de 36—48 horas, amputando o femur e cultivando-o nos meios mencionados, constatou, igualmente, a existencia de anticorpos bactericidas e agglutininas na emulsão de medulla ossea.

TSURUMI e KOHDA (1913) chegaram á conclusão de que o baço constitue o lugar mais importante de producção dos anticorpos que demandam complemento encerrando-os já no fim da 20ª hora de immunisação; a producção na medulla ossea e ganglios lymphaticos não é tão pronunciada como no baço, e, mais tarde, a quantidade produzida permanece inferior á encontrada neste orgão.

LIPPMANN (1914) estudou a influencia do thorio X e de compostos arsenicaes sobre a curva de producção dos anticorpos. Verificou, em animaes previamente immunisados e deixados em repouso durante um mez, uma elevação das agglutininas *(B. typhico)* no sôro, ultrapassando o maximo anteriormente attingido, após applicação de uma dose de thorio X (cerca de 1 ½ unidade elektrostatica por kilogrammo de peso, elevação que attribue a uma influencia estimulante do thorio sobre a medulla ossea. Pesquizas inteiramente analogas, feitas com anticorpos da natureza dos amboceptores (hemolysinas) deram resultado negativo; quer pelo emprego do thorio X em doses diversas, quer pelo emprego do salvarsan, que possue, igualmente, uma acção estimulante bem verificada sobre a medulla ossea, não obteve alteração da curva de producção das hemolysinas. Animaes (camondongos) injectados com substancias que estimulam a medulla ossea (salvarsan e thorio X) resistem a uma infecção (culturas de pneumococco) mortal para as testemunhas.

SIMONDS e JONES (1915) pesquizaram a influencia do benzol sobre a producção dos anticorpos; essa substancia exerce uma influencia nociva accentuada sobre os orgãos hematopoéticos, particularmente sobre a medulla ossea. Tornou-se evidente uma depressão nas curvas de producção de hemolysinas, agglutininas e opsoninas comparadas a testemunhas; a depressão foi mais accentuada no caso das hemolysinas e menos no das opsoninas.

SIMONDS e JONES 1915 estudaram as alteracções da producção dos anticorpos, de um lado, em coelhos sugeitos á acção dos raios X, que exerce uma acção destruidora especifica sobre o tecido lymphadenoide, e, de outro lado, em animaes inoculados com benzol, que exerce uma acção destruidora especifica sobre a medulla ossea. A acção dos raios X não é tão especifica como se pensava, pois HEINEKE mostrou que lesa igualmente a medulla ossea, devendo-se levar esse facto em consideração ao ler os resultados das experiencias de SIMONDS e JONES, que são os seguintes: a) a formação de agglutininas nos animaes expostos aos raios X é diminuida de modo apreciavel embora não tanto como nos coelhos inoculados com benzol; b) parece que a producção de bacteriolysinas não é muito prejudicada pela exposição aos raios X; c) não ha alteração apreciavel do conteúdo do sôro em opsoninas e o poder de fixação do complemento, nos coelhos expostos aos raios X.

HEKTOEN (1918), que defende a ideia de que os anticorpos são produzidos pelos orgãos hematopoéticos, verificou que a exposição dos animaes aos raios X prejudicava de modo notavel, e, ás vezes, completamente, a producção de anticorpos, quando era feita na occasião em que recebiam o antigeno, não tendo, ao contrario, influencia alguma quando feita na occasião em que a producção de anticorpos havia attingido ao seu maximo; uma resistencia analoga mostraram os animaes inoculados com benzol no periodo de activa producção de anticorpos.

Experiencias de HEKTOEN (1920) parecem indicar claramente que, depois que o processo de producção de anticorpos se acha em andamento, a splenectomia tem pouca ou nenhuma influencia sobre o conteúdo do sôro em anticorpos, se bem que, ás vezes, o seu effeito seja variavel e incerto; assim, no coelho, após a injecção de uma dose grande de sangue de carneiro, a splenectomia tem pouco ou nenhum effeito sobre a producção de anticorpos; ao contrario disso, feita no mesmo animal, embora com muitas semanas de antecedencia, intervem na formação de precipitinas

MORESCHI, MORESCHI e VOTKY e HOWELL (1920), verificaram a ausência de formação de agglutininas e opsoninas (HOWELL) em doentes de leucemia, onde são intensas as alterações da medulla ossea.

Um argumento a favor da formação de agglutininas pelos orgãos hematopoéticos e particularmente pela medulla ossea, consiste em que a regeneração do sangue provocada em animaes immunisados, por sangrias repetidas, é acompanhada de uma producçao augmentada de anticorpos. Este phenomeno foi estabelecido por HAHN e LANGER; os auctores que repetiram sua technica, não o confirmaram. Parece, porém, que o resultado depende da opportunidade da sangria, pois JÖTTEN (1920), que nada conseguio usando da technica de HAHN e LANGER, obteve até um augmento de 40 ou de 100 vezes (conforme a leitura do resultado era feita no fim de 2 ou de 24 horas) do titulo do sôro em agglutininas *(B. typhico)*, effectuando nos coelhos, a partir do segundo dia de inoculação, sangrias de 5 ou de 20 c. c.

Injecções endovenosas de chlorureto de manganez, de nickel, de cobalto e de zinco provocam um augmento consideravel e rapido da concentração de agglutininas e antitoxina diphterica (WALBUM, 1921).

5º) Outros orgãos que não os hematopoéticos, exercem igualmente influencia sobre a producção dos anticorpos.

M' GOWAN (1909), estudando as alterações histologicas das visceras de coelhos inoculados com globulos vermelhos de gallinha, notou um accumulo desses glo-

bulos injectados, nos sinusoides do figado, o qual era muito maior do que em qualquer outra viscera e persistia por maior prazo de tempo; achou que esse accumulo no figado, juntamente com a conhecida actividade phagocytaria das cellulas hepaticas, a sua acção reconhecida sobre os productos de digestão, dão força á ideia de que o figado é a séde de formação dos anticorpos. São factos bem frageis, como vimos, para supportar uma tal asserção.

NOLF e MÜLLER (1911) são de opinião que as cytolysinas naturaes (alexinas e amboceptores normaes) se originam ao nivel do figado. As suas experiencias principaes procuram demonstrar o desapparecimento prompto do complemento e dos amboceptôres naturaes após a supressão da circulação hepatica, a sua persistencia após os traumatismos os mais formidaveis, como a extirpação de todos os orgãos abdominaes com excepção do figado, contanto que este permaneça physiologicamente intacto, a possibilidade de augmentar o poder alexico e sensibilisador do sangue fazendo-o circular em figados isolados e vivos.

HOUSSAY e SORDELLI (1921) constataram que coelhos, cães e cavallos cuja glandula thyreoide foi retirada, forneciam maior quantidade de hemolysinas, agglutininas e antitoxinas que os testemunhas.

ECKER e GOLDBLATT (1921) mostraram a necessidade de um conhecimento anatomico exacto nas experiencias de ablação das glandulas thyreoide e parathyreoide, e verificaram que a thyreoidectomia com parathyreoidectomia parcial não inhibe a producção de antiçorpos (hemolysinas), ao passo que nos poucos animaes que sobrevivem a uma thyro-parathyreoidectomia completa, a producção de hemolysinas é reduzida a um quinto do normal.

SESTINI (1922) affirma que a glandula thyreoide da cobaya soffre, durante a immunisação contra o *B. typhica*, um processo de hyperplasia, e mostra phenomenos morphologicos intensos de hypersecreção cellular.

As experiancias de CUTLER (1922) mostram que a hypophyse não exerce directa ou indirectamente, influencia importante sobre a producção e a persistenc a no sangue, de agglutininas e hemolysinas, a menos que a porção de hypophyse que é imprescindivel deixar no animal para manter-lhe a vida, não exerça a mesma influencia que toda a glandula.

6º) Os anticorpos são preexistentes no sangue e tecidos liquidos do organismo.

Ideias novas são defendidas recentemente por SAHLI (1 20).

SAHLI discorda de EHRLICH, no pensar que o protoplasma cellular não é a séde de producção dos anticorpos. A origem dessas substancias é o proprio sangue (que, segundo SAHLI, é uma secreção) e tecidos liquidos; as cellulas produzem os anticorpos physiologicamente, em resposta a excitações do sangue e tecidos liquidos.

Os diversos anticorpos são preexistentes no sangue; pela introducção do antigeno (immunisação) obtem-se um enriquecimento artificial o qual depende da lei bem conhecida segundo a qual a secreção é augmentada afim de cobrir um déficit, e vae além do limite necessario.

A producção de anticorpos seria apenas uma modalidade de regeneração do sangue, regeneração levada ao excesso. Essa regeneração effectua-se em virtude do seguinte: O antigeno e o anticorpo unem-se em uma combinação colloidal, em virtude da qual cessa a funcção que o anticorpo desempenhava no sangue. O organismo reage a essa perda de anticorpo, que funccionava, por meio de uma secreção augmentada, afim de produzir nova e maior quantidade de anticorpos.

II—Material e methodos de pesquiza.

Examinamos a medulla ossea de 54 coelhos, alguns em condições normaes, a maioria (40) em diversos estadios de immunisação para a obtenção de agglutininas.

Os animaes, sacrificados opportunamente, foram necropsiados logo após; aquelles que morreram no decurso das experiencias só foram aproveitados quando a necropsia poude ser feita sem demora.

Em todos os animaes examinamos systhematicamente a medulla ossea do femur de ambos os lados.

Libertado o femur das partes molles que o recobrem, era seccionado por meio de um costotomo o mais perto possivel das epiphyses. Em uma das extremidades do canal osseo davamos, com uma tesoura afiada, dois golpes, e, por meio de tracções cuidadosas, esses cortes eram prolongados por fractura longitudinal do tubo osseo, até a extremidade opposta.

Quasi sempre obtinhamos então, em uma das metades do corpo do femur, um cylindro perfeito que comprehendia a medulla ossea. Nos casos em que havia diminuição de consistencia da medulla ossea, essa operação dava resultados menos satisfatorios.

O fragmento do femur ao qual adheria a medulla ossea era collocado no fixador ou então, tocando de leve com a pinça, destacavamos o cylindro que constituia a medulla ossea e deixavamos cahir pequenos fragmentos cortados com

tesoura, successivamente em sublimado-alcool e em ZENKER-formol (sem acido acetico), que foram os fixadores usados

A inclusão foi feita em parafina e os córtes foram corados pelo methodo de GIEMSA a humido (fixação em sublimado-alcool) e pela hematoxilina-eosina (fixação em ZENKER-formol).

Em alguns casos o material foi fixado unicamente em ZENKER-formol, sendo que, então, as preparações pelo GIEMSA a humido não eram tão favoraveis ao estudo quanto as coradas pela hematoxilina-eosina. Noutros casos, o fixador exclusivo foi o sublimado-alcool; aqui, a par de bellas preparações pelo GIEMSA a humido, obtivemos bons preparados pela hematoxilina-eosina; o tempo de coloração na hematoxilina de HANSEN não diluida, não deve então, exceder de um minuto.

Notamos que a retracção dos tecidos é mais pronunciada no material fixado em sublimado-alcool que no fixado em ZENKER-formol.

E' portanto muito vantajoso o emprego conjuncto dos 2 fixadores e processos de coloração, sendo dos mais instructivos o estudo comparativo das preparações assim obtidas.

Empregamos tambem, em determinadas condições (pesquiza de fibrina, identificação das cellulas do reticulo) varios methodos geraes (methodos de MALLORY pelo azul de anilina e hematoxilina — acido phosphotungstico, V. GIESON etc).

A maioria dos animaes foi immunisada por via endovenosa; um pequeno numero por via intraperitoneal e subcutanea.

Em um grupo, os animaes foram inoculados em um mesmo dia, com uma mesma emulsão de uma mesma cultura de 24 horas de B. paratyphico A.

A emulsão foi assim feita:

Emulsão A. — Preparamos 10 tubos de ensaio, cada um contendo 2 cc. de agua physiologica; em cada tubo emulsionamos uma alça calibrada de 0.002 grs. de uma cultura de 24 horas de B. Paratyphico A; o conteúdo dos 10 tubos foi reunido em 1 balão e este collocado no banho-Maria a 60° durante 1 hora; agitada a mistura, foi distribuida na proporção de 2 cc. para cada tubo de ensaio; foram inoculados na veia marginal da orelha na mesma occasião, 10 coelhos, cada um delles com o conteúdo de um tubo.

Em um outro grupo mais numeroso, inoculamos isoladamente cada coelho do peso de 950—1500 grs. por via endovenosa, subcutanea e intraperitoneal com uma emulsão em agua physiologica de uma cultura em agar de 24 horas, de B. Paratyphico A (1 alça de 0,002 grs.+ 2 c. c. de agua physiologica, morta pelo aquecimento durante 1 hora no banho-Maria a 65°).

A contagem dos globulos brancos foi feita no hematimetro com camara de LEVY (American Standard Haemacytometer With LEVY Counting Chamber).

Fizemos habitualmente nesse apparelho, 4 contagens simultaneas dos globulos brancos, occasionalmente 3 ou 2, aproveitando as médias das determinações.

A cifra normal de globulos brancos no coelho é avaliada em 5—14.000 (GRUBER), cerca de 9.000 (HEINEKE), 9—12.000 (PROSCHER), 8—13.000 (TALQVIST). Recentemente PENTIMALLI, examinando 10 coelhos normaes, verificou variações individuaes do numero de globulos brancos indo de 4.520 a 10.300 por mm.^{3} razão pela qual acha que deve haver muita prudencia no attribuir uma significação a oscillações leves; o numero 6.876 representa a média das suas determinações.

As nossas pesquizas, que foram controladas pelo exame histologico da medulla ossea, deram o seguinte resultado:

Quadro I

Nº do animal	Peso	Nº de gl. brancos por mm³.
Coelho 268	1.500 grs.	16.000
376	970 grs.	10.697 (média de 4 dias)
300	1.060 grs.	10.600
269	1.500 grs.	7.400
		11.174 (média).

Quadro II.

Animal	Peso	Numero de globulos brancos em 1 mm³ de sangue.	Sacrificado a	Observações	Estudo microscopico da medulla ossea.
Coelho 127	—	5.400	.....	.....	Congestão e ligeiro edema do reticulo.
Coelho 128	—	34.400	.....	.....	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
Coelho 130	—	12.200	.....	.....	Ligeiro edema do reticulo; diminuição do numero de cellulas do parenchyma.
Coelho 271	800 grs.	(14 hs. 55' de 3/6/920)-16.000	15 hs. 10' de 3/6/920	Morto por anesthesia violenta (chloroformio).	A medulla ossea mostra pronunciado edema do reticulo, atrophia das cellulas gordurosas e focos de multiplicação de myeloblastos.
Coelho 268	1.500 grs.	(14 hs. 45' de 17/7/920-16.000	15 hs. 30' de 17/7/920	Id. id.	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
Coelho 269	1.500 grs.	(15 hs 20' de 17/7/920)-7.400	15 hs. 35' de 17/7/920	Id. id.	A medulla ossea apresenta aspecto normal.
Coelho 275	—	———	7/8/920, agonisante.	Id. id. Permaneceu durante alguns dias no laboraforio, tendo emmagrecido rapidamente.	Nota-se pronunciado edema do reticulo, congestão, atrophia das cellulas gordurosas, alterações regressivas das cellulas do parenchyma, abundancia de cellulas pigmentadas (hemosidesina).
Coelho 300	1.060 grs.	(14 hs. de 3/9/920)-10.600	3/9/920	Morto por anesthesia violenta (chloroformio).	A medulla ossea apresenta aspecto normal.

Após algum tempo de trabalho apreciamos devidamente a importancia da recommendação de SELLING, de observar durante o praso de 3 dias consecutivos a cifra de globulos brancos do coelho, só empregando aquelles em que, durante esse tempo, se tenha observado uma cifra normal, e despresando os que apresentarem variações diarias (1) consideraveis ou uma cifra anormal.

(1) Essas variações excedem raramente um limite de 3—4000 gl bulos brancos em 1 mm.³ de sangue. O seguinte animal póde sêr considerado como exemplificando bem as variações diarias em um coelho normal:

Coelho 376.

Dia 16/2/921—gl. brancos=9.733 por mm.³ (média de 3 contagens).

Dia 17/2/921—gl. brancos=11.533 (média) Dia 18/2/921—12.266 (média) Dia 19/2/921 9.256 (média).

Quadro III.

Animal	Peso	Data	Hora	Numero de gl. em 1 mm³ de sangue.	Morte	Estudo microscopico da medulla ossea.
Coelho 375	1.180 gs.	16.2.921 17.2.921 18.2.921 19.2.921	13 hs. 16 hs. 10' 16 hs. 15' 11 hs. 30'	16.400 (média de 2 contagens) 14.933 (« « 3 «) 7.133 (« « « «) 20.600 (« « 2 «)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, ás 13 hs. 15' de 19.2.921.	Discreto edema do reticulo e leve congestão. Afóra a isso, o aspecto da medulla ossea é normal.
Coelho 376	970 gs.	16.2.921 17.2.921 18.2.921 19.2.921	13 hs. 15' 15 hs. 35' 16 hs. 11 hs. 25'	9.733 (média de 3 contagens) 11.533 (« « « «) 12.266 (« « « «) 9.256 (« « 4 «)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, ás 13 hs. 55' de 19.2.921	A medulla ossea apresenta estructura perfeitamente normal.
Coelho 377	950 gs.	16.2.921 17.2.921 18.2.921 19.2.921	13 hs. 25' 16 hs. 15 hs. 55' 11 hs. 10'	21.700 (média de 2 contagens) 17 250 (« « 4 «) 11.750 (« « « «) 20.666 (« « «)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 2') ás 14 hs. 10' de 19.2.921.	Pronunciado edema do reticulo, atrophia das cellulas gordurosas, empodrecimento de cellulas do parenchyma (aplasia), congestão discreta.
Coelho 381	1.260 gs.	8.3.921 9.3.921 14.3.921 15.3.921 16.3.921	13 hs. 10' 12 hs. 50' 15 hs. 10' 13 hs. 55' 13 hs. 55'	10.150 (média de 4 contagens) 9.800 (« « « «) 14.500 (« « « «) 13.000 (« « «) 17.800 (« « « «)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 1'45'') ás 16 hs. 10' de 16.2.921.	Hyperplasia das cellulas do parenchyma (myelocytos amphophilos e eosinophilos com figuras de karyocinese, e leucocytos polymorphonucleares).
Coelho 382	1.110 gs.	8.3.921 9.3.921 14.3.921 15.3.921 16.3.921	13 hs. 20' 13 hs. 15 hs, 25' 14 hs. 5' 14 hs. 5'	10.900 (média de 4 contagens) 26.100 (« « « «) 13.600 (« « « «) 19.050 (« « « «) 15.700 (« « « «)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 1'30'') ás 16 hs. 25' de 16.3.921.	Hyperplasia das cellulas do parenchyma (myelocytos amphophilos e eosinophilos e leucocytos polymorphonucleares amphophilos e eosinophilos).
Coelho 383	1.200 gs.	8.3.921 9.3.921 14.3.921 15.3.951 16 3.921	13 hs. 30' 13 hs. 10' 15 hs. 40' 14 hs. 20' 14 hs. 25'	13.200 (média de 4 contagens) 8.800 (« « « «) 10.500 (« « « «) 12.350 (« « « «) 12.900 (« « « «)	Anesthesia violenta pelo chloroformio, (morte em 1'32'') ás 16 hs. 33' de 16.3.921	A medulla ossea apresenta aspecto normal.

Com effeito, as seguintes observações, que fizemos, nos mostraram quão sensivel é a medulla ossea a condições pathologicas, apresentando então alterações morphologicas notaveis que viriam falsear totalmente a interpretação das experiencias tentadas naquellas condições.

Procedemos do seguinte modo.

De um lado estudamos a morphologia da medulla ossea em coelhos vindos directamente do bioterio do Instituto para o nosso laboratorio e sacrificados in-continente, sendo apenas annotado o numero de globulos brancos momentos antes de sacrifical-o.

No quadro II acha-se consignado o resultado a que chegamos.

Vê-se pelo quadro junto que, 50 % dos coelhos examinados nas condições referidas apresentam alterações morphologicas ás vezes importantes da medulla ossea, sendo absolutamente improprios para uma experiencia criteriosa.

De outro lado estudamos a morphologia da medulla ossea em coelhos que foram mantidos em observação no nosso laboratorio durante 3 dias consecutivos; examinando o Quadro III verifica-se que os animaes que apresentaram alterações da medulla ossea são justamente os que, no periodo de observação, mostraram uma cifra anormal de leucocytos.

Como sómente após algum tempo de trabalho começamos a submeter rigorosamente os animaes á observação durante o praso referido, tivemos de separar o nosso material em grupos diversos de valor demonstrativo desigual.

Temos assim um grupo *I* de animaes com numero de globulos brancos normal durante o tempo de observação e que foram sacrificados sem soffrerem inoculação; um grupo *II*, o mais importante, que comprehende animaes nas condições do grupo *I* e sacrificados ou mortos em diversos periodos de immunisação.

Um grupo *III* é constituido por animaes que apresentaram numero anormal de globulos brancos durante o periodo de observação.

Em um grupo *IV* incluimos, finalmente, todos os animaes que não foram submettidos á observação durante 3 dias antes de usados em experiencias.

Desse modo cada grupo serve de testemunha de outros, constituindo precioso material de comparação.

Este ponto tem muita importancia tratando-se de animaes muito sensiveis a más condições de alojamento e alimentação e sujeitos a varias doenças, e, ainda mais, quando se tem por objectivo observar a morphologia de um tecido como a medulla ossea, que verificamos apresentar alterações importantes em animaes considerados normaes a um exame superficial.

Animaes immunisados contra o B. paratyphico A.

Coelho	N. do animal	Via de inoculação	Morte	Periodo de immunisação	Observações
1	131 A	intracardiaca	Sacrificado (anesthesia brusca pelo chloroformio).	1 hora	Abandonado; cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam a inoculação.
2	364	endovenosa	« « «	1 hora	Na medulla ossea, o phenomeno mais evidente é o edema do reticulo e atrophia das cellulas gordurosas, havendo ligeira diminuição do numero de cellulas. Congestão pouco intensa; existem leucocytos polymorphonucleares e megakaryocytos bem conservados. Acreditamos que se trate de um animal anormal; a unica numeração de globulos brancos foi feita minutos antes da noculação.
3	365	«	« « «	1 hora	A medulla ossea mostra, de modo geral, o me mo aspecto da do 364. O ique sabemos dos antecedentes deste coelho (gl. brancos=64.600) antes d[a] inoculação, nos autoriza a pensar que se trate de um animal anormal. A aplasia é mais accentuada que no 364.
4	223	«	« « «	2 hs. 20'	Cifra anormal de leucocytos.
5	391	«	« « «	2 hs. 38'	Cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam á inoculação; o estudo histologico da m ossea confirma que não se trata de 1 animal anormal.
6	392	«	« « «	2 hs. 59'	Cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam á inoculação; o estudo histologico de m. ossea confirma que não se trate de 1 animal normal.
7	368	«	« « «	3 hs. 34'	Aproveitado nas descripções histologicas.
8	369	«	« « «	3 hs. 57'	« « « «
9	393	«	Morto	15 hs.	O baço mostra intensa splenite aguda. Ab ndonado por não ter sido autopsiado recentemente e apresentar alterações cadavericas.
10	397	«	«	15 hs.	Abandonado; alterações cadavericas presentes.
11	394	«	«	17 hs.	
12	210	«	«	17 hs.	Aproveitado nas descripções histologicas
13	211	«	«	17 hs.	
14	372	«	«	19 hs.	O estudo histologico da medulla ossea confirma os antecedentes (numeração de globulos brancos) que indicavam 1 coelho anormal.
15	398	«	«	23 hs. 30'	Abandonado; a autopsia foi feita horas após a morte.
16	151	«	«	24 hs.	
17	152	«	«	24 hs.	
18	212	«	«	24 hs.	Aproveitado nas descripções histologicas.

Animaes immunisados contra o B. paratyphico A.

Coelho	N. do animal	Via de inaculação	Morte	Periodo de immunisação	Observações
19	118 C	endovenosa	Morto	24 hs.	
20	131 B	«	«	24 hs.	Cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam a inoculação; 24 hs. após a inoculação, mostrou notavel leucocytose (gl brancos=231.200 por mm³.).
21	410	subcutanea	«	24 hs.	
22	213	endovenosa	«	36 hs.	Aproveitado nas descripções histologicas.
23	153	intraperitoneal	Sacrificado (anesthesia brusca pelo chloroformio).	2º dia	Notavel leucocytose (gl. brancos=96.600 por mm³.) 24 hs. após a inoculação.
24	214	endovenosa	« « «	2º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
25	403	intraperitoneal	Morto	2º dia	
26	150	endovenosa	«	3º dia	
27	215	«	«	3º dia	
28	216	«	Sacrificado (anesthesia violenta pelo chloroformio).	3º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
29	217	«	Morto	5º dia	Pronunciadas alterações cadavericas das cellulas do parenchyma.
30	367	intraperitoneal	Sacrificado (anesthesia violenta pelo chloroformio),	5º dia	Abandonado: cifra anormal de leucocytos.
31	407	subcutanea	« « «	6º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
32	218	endovenosa	Morto	7º dia	« « « «
33	373	«	«	7º dia	
34	221	«	«	8º dia	Aproveitado nas decripções histologicas.
35	222	«	«	8º dia	« « « «
36	154	«	Sacrificado (anesthesia violenta pelo chloroformio).	9º dia	
37	405	intraperitoneal	« « «	10º dia	Cifra anormal de leucocytos; as lesões, contudo, concordam com as de coelhos normaes no mesmo periodo de immunisação.
38	408	subcutanea	« « «	10º dia	Aproveitado nas descripções histologicas.
39	409	«	« « «	10º dia	« « « «
40	133 A	intraperitoneal	« « «	14º dia	« « « «

III—Estudo histopathologico.

4 horas de immunisação.

Coelho 368—Peso 1.050 grs.

Inoculado a 28—1—921 ás 12 hs. 55' na veia marginal da orelha com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça calibrada (2 milligrs.) de uma cultura em agar de 24 hs. de *B. Paratyphico A* morta pelo aquecimento durante uma hora no banho-maria a 65º.

Globulos brancos (sangue retirado ás 13 hs. 5'=8.800 (média) por mm³.

Globulos brancos (sangue retirado ás 13 hs. 42')=15.800 (média) por mm³.

Foi sacrificado (anesthesia brusca pelo chloroformio) ás 16 hs. e 44'.

Autopsia—Medulla ossea de côr vermelha, com areas mais esbranquiçadas; aspecto brilhante. Consistencia firme, um pouco diminuida. Veia central moderadamente turgida.

Estudo histologico—A disposição das cellulas do parenchyma em grupos que occupam os interstícios das cellulas gordurosas é modificada; as cellulas são desordenadas e menos numerosas que no estado normal. As cellulas mais numerosas são os leucocytos polymorphonucleares; estes, ás vezes, dispõe-se em torno de uma cellula gordurosa á maneira de uma coroa (Fig. 1, Est. 17). Vê-se ainda grupos de leucocytos polymorphonucleares occupando a area de uma cellula gordurosa (Fig. 2, Est. 17), figuras que fazem suppor um chimiotactismo pronunciado da cellula gordurosa para os leucocytos polymorphonucleares.

Os espaços sanguineos são um pouco dilatados, existindo tambem discreto edema do reticulo.

As cellulas gordurosas conservam o seu volume normal.

Coelho 369—Peso 1.200 grs.

Inoculado ás 13 hs. de 28/1/921 na veia marginal da orelha com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça calibrada (2 milligrs.) de uma cultura em agar inclinado, de 24 hs., de *B. Paratyphico A* morta pelo aquecimento durante uma hora no banho-maria regulado a 65º.

Numero de globulos brancos (exame feito ás 13 hs. 13')=5.000 (média) por mm³.

Morto pela anesthesia brusca (chloroformio) ás 16 hs. 57' (3 hs. 57' após o inicio da immunisação).

Autopsia—A medulla ossea apresenta aproximadamente o mesmo aspecto assignalado para o coelho 368: talvez a sua consistencia seja um pouco mais firme.

Exame micróscopico—O aspecto é sensivelmente o mesmo que foi descripto para o coelho 368: leve congestão, discreto edema de reticulo, cellulas gordurosas de volume normal, desarranjo dos elementos do parenchyma e abundancia de leucocytos polymorphonucleares, disposição em corôa desses elementos em torno das cellulas gordurosas; estas apresentam o nucleo bem conservado e algumas são inteiramente recobertas por leucocytos polymorphonucleares os quaes parecem adherentes á sua superficie (chimiotactismo) (Fig. 2, Est. 17).

Os elementos da serie que encerra hemoglobina são mais abundantes aqui que no coelho 368.

Ao cabo das quatro primeiras horas de immunisação, observa-se na medulla ossea dos Coelhos 368 e 369 congestão pouco intensa, edema discreto do reticulo e uma alteração (desordem) do arranjo normal das cellulas do parenchyma as quaes são menos numerosas que no estado normal, e sobretudo uma transformação intensa dos myelocytos em leucocytos polymorphonucleares. Estas ultimas cellulas dispõe-se á maneira de uma coroa em torno de algumas cellulas gordurosas: outras vezes, mais numerosas, constituem um pequeno fóco ao nivel da cellula gordurosa. Os aspectos observados suggerem um chimiotactismo pronunciado das cellulas gordurosas para os leucocytos polymorphonucleares nesta phase inicial.

17 horas de immunisação.

Coelho 210—Peso 1.300 grs.

Inoculado ás 13 hs. 30' de 7/4/920 na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B Paratyphico A* morta (Emulsão A)

Morreu durante a noite, antes de 9 hs. de 8/4/920.

Autopsia—A medulla ossea (femur) tem coloração geral vermelha-clara, aspecto brilhante e consistencia normal

Estudo histologico.

Com fraco augmento o córte mostra um fundo corado de modo mais ou menos uniforme em roseo pela eosina (edema do reticulo) no qual apparecem pequenas areas circulares claras, que correspondem ás cellulas gordurosas; as cellulas do parenchyma são consideravelmente diminuidas de numero (aplasia). Os capillares são enormemente dilatados e cheios de hematias, mas de modo discontinuo.

Com forte augmento torna-se logo apparente a raridade, quasi desapparecimento completo dos leucocytos polymorphonucleares.

Os myelocytos, que são notavelmente menos numerosos que na medulla ossea normal, apresentam alterações regressivas pronunciadas; o nucleo de muitos acha-se em pycnose.

Alguns myelocytos formam grupos isolados, constituidos por 3—4 myelocytos amphophilos; são pequenos focos de multiplicação desses elementos. Estes grupos são vistos raramente. As alterações regressivas dos myelocytos são as predominantes.

E' notada abundancia relativa de elementos cellulares pequenos com a morphologia de lymphocytos.

Algumas cellulas gordurosas tem dimensões normaes; quasi todas, porém, são diminuidas de volume; o nucleo é tumefacto e sua fina estructura mais apparente que de ordinario, corando-se bem pela hematoxilina. No protoplasma é notado o apparecimento de uma zona onde a estructura é nitidamente reticulada. Esta zona acha-se situada immediatamente em torno do nucleo, o qual occupa nestas cellulas uma posição muito mais central que nas cellulas gordurosas da medulla ossea normal.

Os megakaryocytos encontrados são séde de pronunciadas alterações regressivas (plasma corado em roseo mais ou menos intenso pela eosina, nucleo em karyolyse).

Em torno dos megakaryocytos alterados são vistas, ás vezes, cellulas com a morphologia dos lymphocytos, não abundantes; no plasma dos megakaryocytos, restos de cellulas phagocytadas.

Na medulla ossea do coelho 210, que morreu 17 horas incompletas após o começo da immunisação, as alterações encontradas são, em resumo:

Alterações dos vasos: *congestão pronunciada dos espaços sanguineos.*

Alterações do reticulo: *edema accentuado.*

Alterações das cellulas do parenchyma:

1) *diminuição notavel do numero de cellulas da medulla ossea* (aplasia).

2) *desapparecimento, quasi completo, de leucocytos polymorphonucleares.*

3) *alterações regressivas pronunciadas dos myelocytos e megakaryocytos.*

4) *multiplicação de myelocytos amphophilos que constituem pequenos focos de 3—4 elementos; os focos são esparsos e vistos com relativa raridade.*

5) *diminuição de volume das cellulas gordurosas, as quaes mostram um nucleo com os finos detalhes de estructura mais apparentes que em condições normaes. Este nucleo é deslocado para o centro da cellula e o protoplasma, em torno, tem uma estructura reticular muito apparente.*

6) *abundancia relativa de cellulas morphologicamente identicas aos lymphocytos do sangue circulante (infiltração lymphocytaria diffusa.)*

24 horas de immunisação.

Coelho 212—Peso 1.300 grs.

Inoculado ás 15 hs 30' de 7/4/920 na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A). Morreu depois das 9 horas de 8/4/920. Autopsiado ás 13 hs. desse mesmo dia.

Autopsia—A medulla ossea tem côr vermelha escura, sendo vistos em sua espessura, pequenos pontos de côr vermelha mais escura.

A consistencia acha-se um pouco diminuida. O aspecto é brilhante.

A veia central é volumosa, turgida, apparecendo como um cordão de côr vermelha, separavel facilmente do parenchyma medullar.

Estudo histologico.

Os córtes da medulla ossea examinados com fraco augmento, mostram desde logo, uma reducção evidente do numero de cellulas do parenchyma (Fig. 3, Est. 19).

O reticulo é sede de um edema accentuado, generalisado (Fig. 4, Est. 19).

Os vasos capillares acham-se dilatados e cheios de hematias (Fig. 3, Est. 19) entre as quaes são ainda visto normoblastos e raros myelocytos e leucocytos.

O estudo das cellulas do parenchyma feito com forte augmento, revelou as alterações seguintes:

E' notada grande escassez, quasi desapparecimento completo dos leucocytos polymorphonucleares.

Cellulas com a morphologia typica de lymphocytos são particularmente abundantes (Fig. 4, Est. 19); estes elementos apparecem isolados, nunca formando aglomerados de mais de 2—3 cellulas.

Além dos lymphocytos que, em certos campos, são o elemento cellular predominante, são vistos myelocytos.

Uns myelocytos mostram um nucleo bem corado pela hematoxilina, o qual muitas vezes tem a forma bilobada.

Alguns myelocytos possuem 2 nucleos espherico de tamanho desigual; não são raros agglomerados de 4 e mais elementos; cada elemento mostra, então, um nucleo bilobado, ou possue 2 nucleos espherico, quasi sempre de tamanho desigual (formas de divisão dos myelocytos).

Ao lado dos myelocytos acima descriptos são vistos outros, não raros, que mostram alterações diversas. Em alguns, o nucleo apparece fracamente corado, de modo diffuso (como um sombreado do nucleo normal, karyolyse); noutros o nucleo acha-se reduzido a uma massa condensada corada em negro, ou a pequenas massas espherica (3 a 5) de tamanhos desiguaes, fortemente coradas (*karyorrhesis* e *pycnose*).

O volume de quasi todas as cellulas gordurosas é menor que o de um elemento da medulla ossea normal (Fig. 3, Est. 19).

O nucleo occupa uma posição muito mais visinha do centro da cellula que o de uma cellula gordurosa normal (Fig. 4, Est. 68); nunca é perfeitamente central sendo sempre levemente excentrico; é mais volumoso que o de uma cellula gordurosa normal, tem forma ovoide, é pobre de chromatina. Occupa uma zona de plasma, a qual tem estructura nitidamente reticulada. Nas malhas do reticulo, em torno do nucleo, são vistos pequenos vacuolos. Na porção peripherica do plasma os vacuolos são maiores, separados por finos septos do reticulo.

Na circumvisinhança immediata da cellula gordurosa, é vista uma substancia uniformemente corada em roseo nos preparados pela hemato'ina-eosina (transudacto-liquido do edema).

Não é possivel encontrar um megakaryocyto com aspecto normal; essas cellulas são diminuidas de numero e offerecem diversos aspectos.

Em um delles, o volume é mais ou menos o de um megakaryocyto normal. O nucleo mostra a configuração caracteristica. Córa-se porem, muito mal pela

hematoxilina, apparecendo como um sombreado de côr azul-escura, mais volumoso que o nucleo normal e nelle não são vistos detalhes finos de estructura; a massa tem, ao contrario, um aspecto hemogeneo e uniforme.

O plasma é constituido por granulações muito pequenas, densamente agrupadas, de tamanho uniforme, fracamente coradas em roseo nos preparados pela hematoxilina-eosina e em azul claro nos preparados pelo GIEMSA a humido.

Em outro aspecto, o volume da cellula é enormemente reduzido, ás vezes a mais de metade do volume normal. O megakaryocyto tem então, as dimensões de um myelocyto (Fig. 5, Est. 19).

O nucleo apresenta-se como uma massa condensada, fortemente corada em azul muito escuro; não mostra detalhes finos de estructura.

O plasma granuloso forma em torno do nucleo assim condensado uma orla mais ou menos estreita; mostra o mesmo aspecto granuloso atraz assignalado.

As alterações da medulla ossea 24 horas após o inicio da immunisação são portanto:

Alterações vasculares: *congestão pronunciada dos espaços sanguineos.*

Alterações do reticulo: *edema pronunciado.*

Alterações das cellulas do parenchyma:

1) *aplasia (diminuição do numero de cellulas).*

2) *abundancia relativa de cellulas com a morphologia de lymphocytos as quaes se acham ora accumuladas no interior dos espaços sanguineos, ora no reticulo onde apparecem como elementos isolados.*

3) *diminuição, quasi auzencia de leucocytos polymorphonucleares.*

4) *alterações regressivas nos myelocytos, megakaryocytos e cellulas gordurosas.*

5) *proliferação dos myelocytos não sendo raros focos esparsos, constituidos por 4 ou mais desses elementos.*

Interpretações provaveis.

As alterações vistas na medulla ossea dos coelhos 210 e 212, mortos no fim de 17 e 24 horas de immunisação, são da mesma natureza.

Notamos apenas, pequenas variações na intensidade das lesões.

Assim, no coelho 210, o edema do reticulo é mais accentuado que em 212. No coelho 212 as cellulas com a morphologia de lymphocytos são ainda mais numerosas e diffusamente distribuidas que no coelho 210.

As lesões reconhecem, provavelmente, a seguinte pathogenia.

O notavel empobrecimento em leucocytos é explicavel, naturalmente, pela leucocytose observada nesta phase da immunisação.

Dessa mesma leucocytose depende a multiplicação ou regeneração dos myelocytos.

A congestão dos capillares e edema do reticulo dependem directamente da introdução na circulação do antigeno (bacterias mortas, seguramente acarretando toxinas (endotoxinas). A congestão deve preceder o edema, o qual é apenas a consequencia de uma congestão intensa e duradoura. Tivemos, aliás, occasião de observar a facilidade com que se produz o edema do reticulo da medulla ossea em varias condições pathologicas, o que é explicado pela estructura especial dos capillares da medulla ossea.

Quanto ás alterações regressivas vistas nos myelocytos, megakaryocytos e cellulas gordurosas, achamos que as lesões vasculares (edema e congestão), acarretando alterações do metabolismo cellular, são sufficientes para as explicar; não é possivel, porém, excluir tambem, aqui, uma acção do antigeno.

Offerece difficuldade a explicação da

abundancia de cellulas com a morphologia de lymphocytos; já o mesmo phenomeno foi observado por SELLING na phase de regeneração da medulla ossea em coelhos intoxicados pelo benzol; o mais provavel é que se trate de uma immigração dessas cellulas dos capillares da medulla ossea, em cujo interior podem ser vistos tambem nos córtes (Fig. 4, Est. 19).

36 horas de immunisação.

Coelho 213—Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A), ás 15 hs. 30' de 7/4/920.

Morreu depois das 9 horas de 8/4/920. Autopsiado ás 13 horas desse mesmo dia.

Autopsia—A medulla ossea tem côr vermelha clara. A consistencia é diminuida, o orgão facilmente dilaceravel deixando fragmentos adherentes ao osso na occasião de ser retirado. Os vasos centraes não são muito apparentes.

Estudo histologico—As lesões da medulla ossea no coelho 213, morto na 36ª hora de immunisação, são da mesma natureza das vistas no coelho 212.

As differenças são:

1º) A congestão é menos accentuada.

2º) A proliferação de myelocytos é mais pronunciada, sendo frequentes figuras de divisão indirecta.

3º) Cellulas com pigmento são encontradas em maior numero.

2º dia de immunisação.

Coelho 214 – Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A), ás 15 hs. 30' de 7/4/920.

Foi sacrificado ás 12 hs. de 9/4/920 (46 horas e 30' após a inoculação).

A autopsia foi feita immediatamente.

Autopsia.—A medulla ossea (femur) tem coloração geral vermelha. O aspecto é brilhante. A consistencia é normal.

Estudo microscopico—Córtes de material fixado em Z. F., corados pela H. E. e GIEMSA a humido.

Com fraco augmento nota-se pronunciada congestão dos pequenos vasos (capillares), edema do reticulo e diminuição do volume e numero das cellulas gordurosas.

O parenchyma medullar parece mais pobre de cellulas que o normal; este empobrecimento, contudo, não é accentuado.

Não são vistas areas de necrose.

Com forte augmento nota-se que as cellulas mais abundantes são myelocytos amphophilos e leucocytos polymorphonucleares, existindo ainda entre ellas, á maneira de uma infiltração diffusa, cellulas pequenas, de nucleo muito rico de chromatina, com a morphologia semelhante á dos lymphocytos do sangue.

Os megakaryocytos não são diminuidos de numero, o seu nucleo mostra-se bem corado e com estructura normal.

Muitos dos megakaryocytos encontrados encerram em seu plasma, um ou mais leucocytos.

As cellulas gordurosas acham-se reduzidas de volume; o vacuolo que corresponde ao material gorduroso armazenado no protoplasma da cellula é, em todas as cellulas, sempre menor que o o de um elemento da medulla ossea normal; essa diminuição corresponde, em muitas cellulas, á metade ou a um terço do volume normal, e, em outras, não raras, a um decimo do volume normal.

Nas cellulas cujo vacuolo é reduzido á metade ou a um terço, o nucleo se conserva á peripheria da cellula, tendo o aspecto que normalmente apresenta. Nas cellulas reduzidas a um decimo do seu volume, o nucleo é mais apparente, tornando-se tumido e vesiculoso; não se vê pycnose ou outro aspecto que indique um processo regressivo nesta especie cellular.

Só raramente, na medulla ossea d'este coelho, verificamos o aspecto da cellula gordurosa descripto para os coelhos 212 e 210 (nucleo volumoso, com ten-

dencia a deixar a sua posição excentrica, cercado de uma zona de protoplasma de estructura nitidamente reticulada).

As alterações encontradas na medulla ossea do coelho 214, sacrificado 46 hs. 30' após o inicio da immunisação, são, em resumo, ás seguintes:

1º) *congestão e edema do reticulo.*

2º) *diminuição ligeira do numero de cellulas do parenchyma medullar, havendo predominancia de myelocytos amphophilos e leucocytos polymorphonucleares; o numero destes ultimos é sensivelmente o mesmo que no parenchyma medullar normal. dando, comtudo, aqui, em virtude do empobrecimento cellular, a impressão de um accréscimo.*

3º) *infiltração difusa do parenchyma por cellulas com morphologia de lymphocytos do sangue.*

4º) *megakaryocytos com aspecto normal, não diminuidos de numero, muitos com um ou mais leucocytos polymorphonucleares em seu plasma.*

5º) *cellulas gordurosas menos numerosas e menores que as da medulla ossea normal. o seu nucleo tendo porém, aspecto identico; outras muito menores (um decimo e menos do volume primitivo).*

O aspecto das cellulas gordurosas interpretamos como phase de recomposição ou reconstituição da cellula gordurosa. Após a perda do conteúdo de gordura visto nas primeiras 24 horas de immunisação, a qual se traduz morphologicamente por um aspecto especial da cellula (v. descripção coelho 212), este elemento vae recuperando aos poucos o conteúdo gorduroso.

3º dia de immunisação.

Coelho 150—Peso 1.150 grs.

Morto com 60 horas de inoculação.

Dia 25/2/920—Globulos brancos (12 hs. 15') =8.000 por mm³.

Foi inoculado ás 16 hs. na veia marginal da orelha com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça (2 milligrs.) de 1 cultura em agar de 24 horas de *Bacillo Paratyphico A.* A suspensão foi morta pelo aquecimento no banho-maria a 60º durante 1 h. e 30'.

Dia 26/2/920—Globulos brancos (11 hs.)=33.400 por mm.3.

Dia 27/2/920—Globulos brancos (15 hs. 30')=34.800 por mm³.

Dia 28/2/920.

Amanheceu morto.

Autopsiado em bôas condições de conservação.

Autopsia—Medulla ossea de consistencia molle, diffluente, de côr vermelha escura; em sua parte central, correspondendo ao seu maior diametro longitudinal, é distinguido um cordão, de côr vermelha-negra, resistente, que se dissocia do parenchyma da medulla. (vasos centraes da medulla).

Estudo microscopico.—Córtes do material fixado em Z. F. corados pela H. E. e GIEMSA a humido.

A medulla ossea mostra um conteúdo cellular visinho do normal.

Persiste a congestão capillar, que é muito accentuada (Fig. 9, Est. 21).

Ha resorpção do edema, o qual é visto apenas aqui e alli, de modo discreto.

As cellulas mais abundantes são myelocytos amphophilos e leucocytos polymorphonucleares (Fig. 11, Est. 21); alguns myelocytos mostram figuras de mitose e affectam a disposição ou aggrupamento em focos.

Tornam-se conspicuos focos de multiplicação de erythroblastos (normoblastos); uns focos são vistos não só em pleno parenchyma, mas sobretudo em torno dos vasos de médio calibre e precapillares (Fig. 10, Est. 21).

A infiltração diffusa do parenchyma por cellulas com a morphologia de lymphocytos é apparente (Fig. 9, Est. 21).

As cellulas gordurosas apresentam o mesmo aspecto descripto para o coelho 214.

Quasi todos os megakaryocytos encerram em seu plasma alguns leucocytos polymorphonucleares; alguns megakaryocytos apresentam alterações regressiva.

As differenças e relações entre as alterações vistas aqui (3º dia de immuni-

sação) e as precedentemente assignaladas, são as seguintes.

Inicia-se a resorpção do edema do reticulo.

Persiste a congestão capillar.

A medulla ossea é quasi tão rica de cellulas quanto no estado normal; essas cellulas são sobretudo, myelocytos e leucocytos polymorphonucleares.

Começam a apparecer fócos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de erythroblastos (normoblastos).

Prosegue a reconstituição ou regeneração do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.

Os lymphocytos tornam-se mais raros, desapparecendo o caracter de infiltração diffusa que apresentavam.

Os megakaryocytos apresentam pronunciada actividade phagocytaria e soffrem phenomenos de desintegração.

3º dia de immunisação.

Coelho 216.
Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma emulsão de *B. Paratyphico A* morta (Emulsão A) ás 15 hs. 30' de 7/4/920.

Foi sacrificado ás 12 hs. 50' de 10/4/920 (72 horas e vinte minutos após a inoculação).

A autopsia foi feita immediatamente.

Autopsia.—A medulla ossea (femur) tem consistencia molle e côr vermelha intensa. São vistas, esparsos, pontos de coloração esbranquiçada.

Estudo microscopico.—Córtes de material fixado em Z. F. corados pela H. E. e GIEMSA a humido.

Com fraco augmento nota-se congestão dos capillares, edema do reticulo, empobrecimento do parenchyma em cellulas, focos cellulares esparsos, desapparecimento das cellulas gordurosas e augmento do numero de cellulas fixas do tecido conjunctivo (Fig. 10, Est. 20), esta ultima alteração sendo discreta.

Com forte augmento, nota-se que as cellulas dominantes são myelocytos e leucocytos, havendo ainda uma infiltração diffusa, mas pouco intensa, por cellulas com a morphologia de lymphocytos.

Os myelocytos apresentam-se frequentemente sob a forma de pequenos agglomerados de 2, 3, 4 ou 6 elementos sendo raros os de maior numero; os grupos de 4 são os mais frequentes (Fig. 8, Est. 20).

A medulla mostra um conteúdo cellular visivelmente abaixo do normal.

As cellulas existentes procuram a visinhança immediata dos capillares.

Essa *distribuição perivascular* das cellulas medullares (aqui leucocytos polymorphonucleares e myelocytos) é bem exemplificada neste coelho.

As cellulas gordurosas são pouco apparentes; em seu plasma, nenhum vácuolo correspondente a um conteúdo gorduroso, é visivel; os limites do protoplasma são indistinctos e confundem-se com o liquido do edema do reticulo. Estas cellulas só podem sêr identificadas pela estructura de seu nucleo e por comparação com o aspecto visto em outros coelhos, onde fórmas de transição eram presentes entre este aspecto e cellulas gordurosas typicas. Devemos assignalar a semelhança do nucleo da cellula gordurosa assim atrophiada e do de uma cellula fixa do tecido conjunctivo.

O nucleo da cellula gordurosa conserva uma estructura typica apesar das mais notaveis modificações de aspecto de seu protoplasma: assim, após a perda total do conteúdo gorduroso do plasma, o nucleo é apenas um pouco mais tumido e arredondado e deixando a sua posição peripherica, vêm occupar o centro da cellula. O arranjo e disposição da chromatina nuclear é muito semelhante ao da cellula gordurosa na medulla ossea normal. Dir-se-hia que as modificações importantes do conteúdo gorduroso são alterações physiologicas e não pathologicas.

Na medulla ossea deste coelho é ob-

servado o augmento do numero de cellulas fixas do tecido conjunctivo; em certos pontos (Fig. 10, Est. 20) o parenchyma medullar é constituido por 10—15 cellulas collocadas lado a lado e em seguimento umas ás outras. A estructura do nucleo destas cellulas é a do fibroblasto; as fibrillas conjunctivas podem sêr distinguidas claramente.

Estes pontos, porém, onde muitos fibroblastos se collocam lado a lado, não são abundantes; quasi sempre os fibroblastos, com as suas caracteristicas morphologicas bem accentuadas, são vistas de mistura com outros elementos cellulares da medulla. Aos que tiveram occasião de estudar a medulla ossea, não precisamos assignalar aqui a difficuldade que offerece, em condições normaes, o reconhecimento das cellulas fixas do tecido conjunctivo.

Alem dos pequenos focos cellulares que são focos de multiplicação dos myelocytos e dos elementos encerrando hemoglobina (megaloblastos e normoblastos), esta medulla nos mostra outros focos mais extensos e que são constituidos por elementos numerosos e densamente agrupados e fazem um contraste notavel com o parenchyma medullar circunvisinho (Fig. 9, Est. 20).

Com forte augmento vê-se que as cellulas que constituem o agrupamento denso são numerosos leucocytos polymorphonucleares; muitos destes em um mesmo ponto, sobrepostos uns aos outros, mostram um nucleo pycnotico e outros acham-se em completa desintegração. Este ponto dá a impressão de um pequeno *infarcto* (Fig. 9, Est. 20).

Entre as cellulas densamente agrupadas que acima assignalamos, podem sêr reconhecidos os elementos proprios do parenchyma medullar.

Resumindo, a medulla ossea deste animal, sacrificado 72 horas e 20 minutos após o inicio da immunisação, offerece os seguintes pontos interessantes:

1º) *A regeneração de polymorphonucleares (multiplicação intensa de myelocytos) constitue o phenomeno dominante.*

2º)—*E' observado desapparecimento completo do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.*

3º)—*A infiltração lymphocytaria, tão notavel nos coelhos 212 e 214 offerece aqui pequena intensidade.*

4º)—*E' notada, pela primeira vez em nossa serie, a hyperplasia das cellulas fixas do tecido conjunctivo.*

5º)—*São vistos focos cellulares differentes dos focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de megaloblastos e normoblastos).*

6º)—*O processo acha-se em evidente atrazo se o compararmos com o visto no coelho 150, morto 60 horas após o inicio da immunisação.*

6º dia de immunisação.

Coelho 407—Peso 1030 grammas.

Dia 28/4/921—13 hs. 35'—globulos brancos=16.750 (média.)

Dia 29/4/621— 13 hs. 30'—globnlos brancos=10.250 por mm³. (média) de 4 contagens.

Dia 4/5/921—14 hs.—globulos brancos=15.800 por mm.3 (média de 4 contagens).

Dia 5/5/921—13 hs. 40'—globulos brancos=14.250 por mm3. (média de 4 contagens).

Dia 6/5/921—12 hs. 55'—globulos brancos=14.350 por mm.3 (média de 4 contagens).

A 6/5/921 recebeu por via subcutanea (13 hs. 45') 1 alça calibrada de 2 milligrammos de uma cultura em agar (24 hs.) de *B. Paratyphico A* em suspensão em agua physiologica, morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 12/5/921—O coelho foi sacrificado ás 14 hs. 20' pela anesthesia brusca pelo chloroformio (a morte occorreu em 1'20").

Estudo histologico—Com fraco augmento vê-se que a medulla ossea é rica de cellulas, um pouco menos, porém, que em condições normaes; nota-se que os vácuolos regularmente espaçados que na medulla ossea normal correspondem ao corpo das cellulas gordurosas, parecem faltar aqui inteiramente.

Com forte augmento verifica-se que

as cellulas gordurosas são diminuidas de volume e em parte desapparecidas; aqui e alli vê-se uma cellula gordurosa de volume notavelmente reduzido e o nucleo emigrado para o centro; quasi sempre a porção do reticulo que a circumda toma fortemente a coloração pela eosina.

Não existe congestão.

O edema do reticulo é menos accentuado que nos coelhos precedentes; acha-se limitado a certas porções do reticulo, as quaes se coram intensamente pela eosina.

Das cellulas do parenchyma, as mais abundantes são os leucocytos polymorphonucleares que mascaram os outros elementos do parenchyma.

São apparentes grupos erythrogeneticos.

Megakaryocytos com disposição e aspecto normaes.

Examinando diversos blocos, notamos leves modificações do aspecto acima descripto; em alguns pontos o edema era mais accentuado e o parenchyma menos rico de cellulas.

7º dia de immunisação.

Coelho 218—Peso 1.300 grs.

Inoculado na veia marginal da orelha com 1 c. c. de uma suspensão de *B. Paratyphico A* (liquido A) ás 15 hs. e 30' de 7/4/920.

Amanheceu morto a 14/4/920. Necropsiado em bom estado de conservação.

Autopsia.—A medulla ossea (femur de ambos os lados) mostra consistencia firme e aspecto brilhante; a coloração é vermelha côr de tijolo,. distinguindo-se em sua massa finas granulações brancas, refringentes.

Estudo histologico.—Com fraco augmento o aspecto da medulla ossea é inteiramente diverso do normal.

Os capillares são dilatados e cheios de hematias (Fig. 13, Est. 22).

As cellulas do parenchyma, abundantes, tem grande tendencia a se agruparem ao longo das paredes dos capillares (Fig. 13. Est. 22).

Com forte augmento verifica-se uma predominancia accentuada de myelocytos sobre as demais cellulas. Não só a maioria das cellulas com disposição perivascular são myelocytos amphophilos, como estes formam grupos de 4, 6 elementos os quaes occupam a espessura do parenchyma, entre os capillares, sobrepondo-se ás cellulas gordurosas que são assim, em parte, mascaradas (vide *a*, Fig. 3, Est. 17); o aspecto é, então, o de um grupo de cellulas (myelocytos) cercado por um halo claro (corpo da cellula gordurosa.).

Outras cellulas gordurosas tem dimensões quasi normaes (*b*, Fig. 3, Est. 17).

São raros os leucocytos polymorphonucleares. Os lymphocytos não são numerosos, existindo sobretudo em torno das arteriolas.

Os elementos da série que encerra hemoglobina affectam a disposição em grupos; as cellulas que os formam não são numerosas, os grupos erythrogeneticos sendo muito menos conspicuos que os elementos da série myeloide; não é difficil encontrar erythroblastos com *karyorrhexis.*

Myelocytos são tão numerosos como no orgão normal, muitos encerrando granulocytos phagocytados.

Com frequencia vê-se nos córtes, focos constituidos por grandes cellulas de nucleo alongado, ás vezes estreitado na parte média (em forma de 8 de cifra), pobre de chromatina, as quaes identificamos as cellulas do tecido conjunctivo; esses focos só occasionalmente encerram outros elementos cellulares alem das cellulas conjunctivas, ora um granulocyto, ora cellulas mononocleares não granulosas.

Coelho 373—Peso 1.400 grs.

Dia 4/2/921—Globulos brancos (13 hs. 25')=16.550 por mm.3 (média).

Inoculado ás 14 hs. 20' do mesmo dia com 1 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão uma alça calibrada (2 milligrs.) de uma cultura em agar, de 24 hs. de *B.*

Paratyphico A, morta. A injecção correu sem incidentes.

Dia 11/2/921—Ás 14 hs. o coelho morreu. Foi autopsiado logo após.

Autopsia:—Animal muito emmagrecido. Os orgãos internos—pulmões, figado, baço, coração e rins, têm aspecto normal. Não ha pneumonia, lesões de coccidiose, nem myxoma

Medulla ossea de consistencia mais ou menos firme; a sua coloração é pallida em territorios mal limitados, vermelha-pardacenta em outros; o aspecto é antes opaco.

Estudo histologico —As alterações da medulla ossea são da mesma natureza das do Coelho 218, havendo pequenas differenças que correm por conta de variações individuaes.

As cellulas do parenchyma são menos abundantes que no Coelho 218, havendo activa hyperplasia dos elementos da série myeloide que affectam disposição perivascular e constituem fócos na espessura do parenchyma.

Os leucocytos polymorphonucleares, ao contrario do que vimos na outra medulla ossea, são muito abundantes, tão numerosos como os myelocytos.

As cellulas gordurosas têm dimensões sensivelmente inferiores ás do elemento normal. Os grupos erythrogeneticos não são conspicuos.

As alterações na medulla ossea no 7º dia de immunisação são principalmente uma hyperplasia ou proliferação intensa de myelocytos, os quaes assumem uma disposição perivasclar bem nitida; a evolução de myelocytos para leucocytos polymorphonucleares effectua-se de modo activo, apresentando variações individuaes a proporção reciproca dos 2 elementos cellulares.

Persiste a congestão capillar, sendo discreto o edema do reticulo.

As cellulas gordurosas são diminuidas de volume; algumas, porém, já reaquiriram as suas dimensões; outras são mascaradas pelos myelocytos em hyperplasia.

Elementos da série que encerra hemoglobina são encontrados, mas muito menos conspicuos que os da série myeloide.

Pequenos fócos de fibrose (proliferação de cellulas conjunctivas) são numerosos, representando, provavelmente, a organisação de pequenos fócos hemorrhagicos.

10º dia de immunisação.

Coelho 405 (v. nota)—Peso 950 grs.

Dia 11/4/921—Globulos brancos=14.400 por mm.3 (média).

Dia 13!4/921—(16 hs. 20') Globulos brancos=16.500 por mm.3 (média).

Dia 14/4/921—(16 hs 10') Globulos brancos=18.450 por mm 3 (média).

Dia 15/4/921—(12 hs. 40') Globnlos brancos=19.550 por mm.3 (média).

Dia 16/5/921—(12 hs. 35') Globulos brancos=15.333 por mm.3 (média).

Foi inoculado por via intraperitoneal, ás 12 hs. 52' de 16/4/921 com 1 alça de 2 milligrs. de 1 cultura de 24 hs. em agar inclinado, de *B. Paratyphico A* morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 26/4/921—Morto pela anesthesia brusca pelo chloroformio ás 14 hs. 15'.

A morte occorreu em 1' e 15'.

Autopsia—A medulla ossea não apresenta alterações macroscopicas.

Coelho 408—Peso 1.140 grs.

Dia 28/4/921—(13 hs. 40')—Globulos brancos=10.950 por mm.3 (12-800—11.600—10.600—8.800).

Dia 4/5/921—(15 hs. 30')—Globulos brancos=15.950 por mm.3 (16.800—14 800—14.600—13.600).

Dia 5/5/921—(14 hs. 5')—Globulos brancos=19.400 por mm 3.

Dia 6/5/921—(13 hs).—Gtobulos brancos=12.850—(13.000—12.400—11.600—10.400)

Foi inoculado por via subcutanea, ás 14 hs. 45' de 6/5/921 com 1 alça de 2 milligrs. de 1 cultura em agar (24 hs). de *B. Paratyphico A* em suspensão em agua physiologica, morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 16/5/921=O coelho foi sacrificado pela anesthesia brusca pelo chloroformio (15 hs.).

Nota—Este coelho (405), que apresentou uma cifra anormal de leucocytos nos dias que precederam á immunisação, foi aproveitado no nosso estudo porque as alterações que apresentava a medulla ossea eram perfeitamente analogas ás que verificamos nos coelhos abaixo assignalados que apresentaram cifra normal de globulos brancos.

Coelho 409—Peso 1130. grs.

Dia 5/5/921—(14 hs.) Globulos brancos=10.350 por mm.3 (11.600—11.200—10.000—9.400).

Dia 6/5/921—(13 hs. 15') Globulos brancos=12 800 por mm.3. (14.800—13 400—11.800—11.200).

Dia 6/5/921—A's 13 hs. 45' foi inoculado por via subcutanea com 1 alça de 2milligrs. de 1 cultura em agar de *B. Paratyphico A* em suspensão em agua physiologica, morta no banho-maria a 65º durante 1 hora.

Dia 16/5/921—A's 16 hs. o coelho foi sacrificado pela anesthesia violenta pelo chloroformio.

Uma unica descripção dá conta do aspecto da medulla ossea nestes 3 animaes, tão analogas são as alterações existentes.

Apenas na medulla ossea de 405 e 408 só com dificuldade é possivel encontrar cellulas encerrando pigmento, as quaes, ao contrario, não são raras em 409.

Estudo histologico.—Com fraco augmento as cellulas gordurosas são diminuidas de volume e as porções do reticulo que as circundam tomam fortemennte a eosina. Nos preparados pelo MALLORY (azul de anilina) estas porções coram-se de modo uniforme em vermelho alaranjado dando o aspecto de uma substancia hyalina, ao passo que a porção restante do reticulo se cora em azul (liquido do edema).

As cellulas do parenchyma são sensivelmente tão numerosas como no animal normal.

A existencia de myelocytos em pequenas ilhotas isoladas de 3, 4, 6 ou 10 e mais elementos ao lado de outros grupos distinctos de elementos cujo plasma encerra hemoglobina (grupos onde existe regeneração das cellulas da série myeloide e grupos erythrogeneticos) é uma feição bem evidente nesta medulla ossea concordando com o que BUNTING e SELLING referem a respeito deste orgão em regeneração.

Os leucocytos polymorphonucleares são egualmente abundantes e os megakaryocytos bem conservados.

Occasionalmente são vistas areas onde existe discreta congestão dos capillares.

O aspecto das alterações não é uniforme; em alguns fragmentos o edema do reticulo é mais pronunciado e as cellulas gordurosas menos volumosas; as cellulas do parenchyma, embora menos numerosas, mostram a disposição em grupos distinctos de elementos da série myeloide e erythrogeneticos.

A medulla ossea no 10º dia de immunisação mostra, portanto, uma activa regeneração das cellulas do parenchyma, tanto das cellulas da série myeloide como dos elementos encerrando hemoglobina; aquellas, porém, mais numerosas que estas.

A congestão dos capillares só existe em raros pontos e o edema do reticulo acha-se em reabsorpção; na visinhança immediata das cellulas gordurosas é encontrada uma substancia homogenea, corando-se em vermelho alaranjado pelo methodo de MALLORY (azul de anilina) e tomando fortemente a eosina (substancia hyalina?).

14º dia de immunisação.

Coelho 133A—Peso 1.750 grs.

Dias.

19—1—920—Globulos brancos: 13.290 por mm3.

20—1—920—Globulos brancos (16 hs.): 6.600 por mm3. Foi inoculado no peritoneo (16 hs. 20') com 1,5 c. c. de uma mistura de 2 c. c. de agua physiologica mais 1 c. c. de uma cultura em caldo (24 hs.) de *B. Paratyphico A*

21—1—920—Globulos brancos (14 hs.): 18.800 por mm3.

22—1—920—Globuios brancos (12 hs. 30'): 11.800 por mm3.

24—1—920—Inoculado no peritoneo (13 hs. 30') com 3 c. c. de agua physiologica tendo em suspensão 2 alças de uma cultura em agar de 24 hs. de *B. Paratyphico A.*

3—2—920—Globulos brancos (11 hs.): 13.000. Foi sacrificado ás 11 hs. 30'.

Estudo histologico:—Com pequeno augmento nota-se que a medulla ossea é mais rica de cellulas que o orgão normal. Os espaços claros que, neste, cor-

respondem ás cellulas gordurosas, aqui não são reconheciveis; em lugar delles vê-se as numerosas cellulas do parenchyma diffusamente disseminadas.

Os capillares sanguineos não são dilatados sendo reconheciveis (fraco augmento) com difficuldade entre as abundantes cellulas do parenchyma.

Com forte augmento reconhece-se que as cellulas mais numerosas são myelocytos e leucocytos polymorphonucleares; é commum ver-se fócos de myelocytos e, em suas margens, numerosos leucocytos polymorphonucleares. Entre estas cellulas são facilmente encontrados megakaryocytos, quasi todos encerrando em seu plasma 1 a 2 leucocytos phagocytados; são tambem encontradas cellulas da série que encerra hemoglobina.

O facto, porém, mais notavel nesta medulla ossea em pronunciada hyperplasia é a existencia de fócos de proliferação das cellulas do reticulo, que formam estructuras, á primeira vista, semelhantes a folliculos lymphoides (Fig. 17, Est. 72).

Os referidos fócos são bastante conspicuos, já com pequeno augmento, devido, á ausencia, nelles, de granulocytos; são formados por cellulas grandes, de nucleo redondo ou oval, pobre de chromatina mostrando 1, 2 a 3 nucleolos, plasma levemente basophilo (cellulas do reticulo); a coloração pelo azul de anilina (MALLORY) mostra que essas cellulas não encerram fibrilas conjunctivas; em certos campos favoraveis vê-se que o protoplasma dessas grandes cellulas possue prolongamentos finos que caminham ao encontro de outros vindos de cellulas semelhantes. Estas cellulas gozam de actividade phagocytaria, encerrando o seu plasma, ás vezes, leucocytos granulosos em via de desintegração, granulos redondos corados pela eosina e, ás vezes, pigmento amarello-claro. Entre estas cellulas, nos fócos, occorrem outros elementos, de nucleo redondo, com abundante chromatina e plasma sem granulações; alguns tem a morphologia de lymphocytos.

Quando o fóco attinge dimensões mais consideraveis, as grandes cellulas occupam a parte central, semelhando o centro germinativo de um folliculo lymphoide com os respectivos lymphoblastos; as cellulas mononucleadas não granulosas e lymphocytos, tornando-se numerosos, occupam a zona marginal; o aspecto lembra um folliculo lymphoide (vide Fig. 4, Est. 17).

Não são ainda definitivos os conhecimentos que temos sobre as cellulas do reticulo dos orgãos hematopoéticos. Auctores, como DOWNEY e WEIDEN REICH, admittem a formação de leucocytos mononucleares e lymphocytos á custa de cellulas do reticulo dos orgãos lymphoides.

Não queremos affirmar, de modo categórico, que os focos que descrevemos são folliculos lymphoides; isso será objecto de outra pesquisa. O que queremos deixar bem evidente é a differença entre esses fócos, que talvez sejam folliculos lymphoides, e os fócos de proliferação das cellulas conjunctivas (fibrose) que foram constatação banal na nossa serie de coelhos a partir do 6º dia, e que representam pequenos fócos hemorrhagicos no periodo de organisação.

ASKANAZY acha que em condições normaes a medulla ossea da creança encerra folliculos lymphoides, facto esse negado por SCHRIDDE, o qual é de opinião que, sómente em condições pathologicas, tal se verifica. Os folliculos lymphoides assignalados por ASKANAZY não mostravam centro germinativo.

Caso se trate, no nosso coelho, de verdadeiros folliculos lymphoides, o que achamos muito provavel, o phenomeno teria um interesse especial, pois demonstraria a possibilidade de occorrerem, na medulla ossea, folliculos lymphoides com um centro germinativo bem evidente (Fig. 4, Est. 17).

Nos coelhos normaes, só occasional-

mente encontramos lymphocytos, os quaes eram sempre elementos isolados. A existencia de folliculos lymphoides na medulla ossea do coelho adulto é, para nós, uma condição pathologica. Seria, aqui, cabivel a designação de «*metaplasia lymphoide*» da medulla ossea?

IV—Conclusões.

É commum verificar alterações histopathologicas da medulla ossea em coelhos apparentemente sadios; em taes animaes, porém, a cifra de globulos brancos é quasi sempre anormal. Mostrou-se de grande utilidade a recommendação de SELLING, de observar durante o praso de 3 dias consecutivo a cifra de globulos brancos, despresando os coelhos que apresentarem, durante esse tempo, variações diarias consideraveis ou uma cifra anormal.

Fizemos o estudo histopathologico da medulla ossea de 40 coelhos immunisados para a obtenção de agglutininas (*B. Paratyphico A*).

Verificámos a existencia de alterações, as quaes se succedem com grande constancia e regularidade, podendo o processo ser dividido, sob um ponto de visto morphologico, nas seguintes phases:

4 horas de immunisação. Congestão pouco intensa, edema discreto do reticulo e uma alteração (desordem) do arranjo normal das cellulas do parenchyma as quaes são menos numerosas que no estado normal, e sobretudo uma transformação extensa dos myelocytos em leucocytos polymorphonucleares. Estas ultimas cellulas dispondo-se á maneira de uma coroa em torno de algumas cellulas gordurosas, constituem um pequeno foco ao nivel da cellula gordurosa (v. Figs. 1 e 2, Est. 17). Os aspectos observados sugerem um chimiotactismo pronunciado das cellulas gordurosas para os leucocytos polymorphonucleares.

17 a 36 horas. Congestão pronunciada e edema accentuado do reticulo (v. Fig. 3, Est. 19). Diminuição notavel do numero de cellulas do parenchyma (aplasia) (v. Figs. 3 e 4, Est. 19), havendo desapparecimento quasi completo dos leucocytos polymorphonucleares. Alterações regressivas pronunciadas dos myelocytos e megakaryocytos (Fig. 5, Est.19). Multiplicação de myelocytos amphophilos, a qual se acha em inicio, constituindo pequenos focos de 3—4 elementos, raros, esparsos. Diminuição de volume das cellulas gordurosas (v. Fig. 3, Est. 19), cujo nucleo, mostrando bem os finos detalhes de estructura, é levemente tumefacto e deslocado para o centro da cellula (v. Fig. 4, Est. 19); o protoplasma, em torno tem uma estructura reticular muito apparente. Finalmente, uma infiltração lymphocytaria diffusa (v. Fig. 4, Est. 19).

2º dia. Persistem a congestão, edema do reticulo e infiltração lymphocytaria diffusa. Ha regeneração dos leucocytos polymorphonucleares, e, talvez, ligeiro excesso dessas cellulas. Inicia-se o processo de recomposição ou reconstituição do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.

3º dia. Inicia-se a resorpção do edema do reticulo. Persiste a congestão capillar (Fig. 9, Est. 21). As cellulas do parenchyma, tão abundantes como no estado normal, são principalmente, myelocytos dispostos em pequenos focos de 2,4 e mais elementos (Fig. 8, Est. 20), e leucocytos polymorphonucleares. Começam a apparecer focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de erythroblastos (normoblastos) (v. Fig. 10, Est. 21).

Prosegue a reconstituição do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas (v. Figs. 9, 10 e 11, Est. 21). Os lymphocytos tornam-se mais raros, desapparecendo o caracter de infiltração diffuque apresentavam, megakaryocytos em pronunciada actividade phagocytaria. Hyperplasia discreta das cellulas fixas do tecido conjunctivo (fibrose) (v. Fig. 10. Est. 20).

5º 6º e 7º dias. A congestão capillar tende a desapparecer e o edema do reticulo acha-se em absorpção. Existe uma hyperplasia ou proliferação intensa de myelocytos, os quaes assumem uma disposição perivascular bem nitida (v. Fig. 13, Est. 22 e Fig. 3, Est. 17); a evolução de myelocytos para leucocytos polymorphonucleares effetua-se de modo activo, apresentando variações individuaes, a proporção reciproca dos dois elementos cellulares. As cellulas gordurosas são diminuidas de volume; algumas, porém, já readquiriram as suas primitivas dimensões (v. Fig. 12, Est. 22); outras são mascaradas pelos myelocytos em hyperplasia (v. Fig. 3, Est. 17). Pequenos focos de fibrose (proliferação de cellulas conjunctivas) são numerosos, representando, provavelmente, a organisação de pequenos focos hemorrhagicos (v. Fig. 9, Est. 20)

10º dia. A congestão dos capillares só existe em raros pontos e o edema do reticulo acha-se em reabsorpção; em torno das cellulas gordurosas acha-se depositada uma substancia com os caracteres da substancia hyalina. O parenchyma mostra uma activa regeneração de cellulas, tanto das cellulas da série myeloide como dos elementos encerrando hemoglobina, aquellas mais numerosas que estas.

14º dia. A medulla ossea acha-se em notavel hyperplasia sendo as cellulas mais numerosas os myelocytos e leucocytos polymorphonucleares. Devido á hyperplasia de cellulas de série myeloide, as cellulas gordurosas não são conspicuas. Nota-se ainda, facto digno de interesse especial, a existencia de fócos com a estructura de folliculos lymphoides providos de um centro germinativo (v. Fig. 4, Est. 17). Megakaryocytos em pronunciada actividade phagocytaria.

Resumindo, diremos que, no decurso da immunisação para a obtenção de aglutininas *(B. Paratyphico A)*, a medulla ossea soffre, logo nas primeiras horas, um notavel empobrecimento em elementos cellulares, havendo congestão intensa e edema do reticulo e alterações regressivas das cellulas do parenchyma. Um phenomeno, então, digno de nota, é a rapida e pronunciada perda do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas, precedida de uma disposição de leucocytos polymorphonucleares em torno desses elementos á maneira de uma coroa; a diminuição de volume da cellula gordurosa parece ser um phenomeno commum em diversos estados pathologicos do orgão; é, porém, facto ainda não assignalado o chimiotactismo evidente e precoce dos leucocytos polymorphonucleares para com a cellula gordurosa, e, só pesquizas complementares poderão elucidar se se trata ou não de um phenomeno peculiar das alterações do orgão na immunisação.

Após esse periodo inicial, os elementos cellulares são pouco a pouco regenerados; antes disso, a medulla ossea é séde de uma infiltração por elementos cellulares com todos os caracteres dos lymphocytos do sangue; essa invasão precede a phase de regeneração dos myelocytos e elementos da série encerrando hemoglobina, facto curioso, que poderá ter uma grande importancia theorica.

O conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas, é, aos poucos, reconstituido.

Mais tarde, no 6º dia de immunisação, a modificação histologica mais evidente, é uma intensa hyperplasia dos elementos do parenchyma medullar; as figuras de divisão indirecta dos myelocytos são muito abundantes. Esta hyperplasia torna-se notavel no 10º e 11º dias; as cellulas gordurosas são, então, mascaradas pelas cellulas do parenchyma. Occorre, em menor escala, uma regeneração das cellulas da série que encerra hemoglobina. Nesse periodo, um facto interessante sob um ponto de vista geral, é a occorência de formações morphologicamente semelhantes a folliculos

lymphoides providos de um centro germinativo.

E' interessante comparar a curva de producção de agglutininas com as alterações da medulla ossea. Sabemos que essa curva attinge o seu maximo (TSUKAHARA) no 6º—8º dias de immunisação, coincidindo assim com uma notavel hyperplasia das cellulas da série myeloide e com a regeneração do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas da medulla ossea.

E' fóra de duvida que as lesões que observamos acham-se intimamente ligadas ás alterações do sangue desde longa data assignaladas no decurso da immunisação.

Achamos que a acção do antigeno, a leucocytose e a producção de anticorpos, são phenomenos intimamente ligados entre si, e que todos concorrem para a producção das alterações da medulla ossea no decurso da immunisação.

Não é isso uma supposição gratuita, pois as experiencias de HEKTOEN mostraram que os «*centros leucocytogenicos*» participam da elaboração dos anticorpos e TISCORNIA, empregando uma technica especial, isolou dos leucocytos de animaes immunisados, substancias com poder immunisante.

Levando em conta que pesquizas immonologicas recentes e experiencias com agentes physicos taes como os raios X, radio e thorio X, tendem a estabelecer que a medulla ossea é o lugar de producção de alguns anticorpos (agglutininas), podemos concluir que os dados morphologicos que apresentamos reforçam essa hypothese.

Explicação das Estampas.

As Figs. das Estampas 18 — 22, são microphotographias de preparações microscopicas (córtes) de medulla ossea de coelho, coradas pela hematoxylina-eosina.

As Figs. 1 e 2, Est. 17, são desenhos de preparações microscopicas (córtes) de medulla ossea, corados pela hematoxilina-eosina e desenhados com Oc. comp. 4 de ZEISS e Obj. imm. homog. $^{1}/_{12}$; a Fig. 3 é desenhada com Oc. 2 de ZEISS e Obj. imm. homog. $^{1}/_{12}$. A Fig. 4, Est. 17, é desenhada de um córte de medulla ossea corado pelo methodo de GIEMSA a humido, examinado com Oc. comp. 6 de ZEISS e Obj. DD, ZEISS.

Estampa 17.

Fig. 1—Medulla ossea na 4ª hora de immunisação (coelho 368).

Leucocytos dispostos em torno de uma cellula gordurosa á maneira de uma coroa (chimiotactismo da cellula gordurosa sobre os leucocytos).

Fig. 2—Medulla ossea na 4ª hora de immunisação (coelho 369).

Os leucocytos dispostos em torno da cellula gordurosa (chimiotactismo) são mais numerosos que na Fig. 1, sobrepondo-se a cellula gordurosa.

Fig. 3—Medulla ossea no fim do 7º dia de immunisação (coelho 218). mostrando activa proliferação de myelocytos.

Notar a predominancia desta especie cellular sobre as demais cellulas do parenchyma e a sua disposição perivascular.

Capillares sanguineos dilatados, um pouco menos que nos primeiros dias de immunisação. Algumas cellulas gordurosas tem dimensões visinhas do normal *(b)*; outras são mascaradas pelos grupos de myelocytos, dando á primeira vista, a impressão de que as cellulas gordurosas foram invadidas por myelocytos *(a)*.

Fig. 4—Medulla ossea no fim do 14º dia de immunisação (coelho 133-A).

Foco cellular que deve ser identificado a um folliculo lymphoide com o respectivo centro germinativo.

A porção central (centro germinativo) é occupada por grandes cellulas de cytoplasma levemente basophilo, nucleo oval, pobre de chromatina, com 1—2 nucleolos *(cellulas do reticulo)*.

Na peripheria. são numerosas as cellulas com a morphologia de lymphocytos, entre as quaes nota-se tambem, elementos do parenchyma medullar (myelocytos e leucocytos).

Nesses focos cellulares não são vistos erythroblastos.

Estampa 18.

Fig. 1—Medul'a ossea de um coelho normal (vista com fraco augmento).

Os espaços claros correspondem ás cellulas gordurosas; entre ellas, acham-se dispostas as cellulas do parenchyma. Os vasos sanguineos não são apparentes.

Fig. 2—Medul a ossea de um coelho normal (vista com forte augmento).

Estampa 19.

Fig. 3—Medul'a ossea no fim de 24 hs. de immunisação (coelho 212).

Congestão pronunciada e edema do reticulo (compare com a Fig. 1, Est. 18). Reducção do numero de cellulas do parenchyma *(aplasia)*. Cellulas gordurosas diminuidas de volume.

Fig. 4—Medulla ossea no fim de 24

hs. de immunisação (coelho 212). (Compare com a Fig. 2, Est. 18). Reducção do numero de cellulas do parenchyma *(aplasia).* Abundancia de cellulas com a morphologia de lymphocytos. Congestão e edema do reticulo. Alterações das cellulas gordurosas (vide a descripção no texto).

Fig. 5—Medulla ossea no fim de 24 hs. de immunisação (coelho 212). Megakaryocyto com alterações regressivas (v. o texto).

Estampa 20.

Fig. 8—Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 215). Multiplicação intensa de myelocytos, os quaes formam pequenos agglomerados de 3—4 elementos. Infiltração diffusa por lymphocytos. Desapparecimento completo do conteúdo gorduroso das cellulas gordurosas.

Fig. 9—Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 216). Focos constituidos por leucocytos polymorphonucleares; muitos destes, em um mesmo ponto, sobrepostos uns aos outros, mostram um nucleo pycnotico e outros acham-se em completa desintegração (pequeno «infarcto»).

Fig. 10—Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 216). Augmento do numero de cellulas fixas do tecido conjunctivo, as quaes, em numero de 10—15 se collocam lado a lado e em seguimento umas ás outras.

Estampa 21.

Fig. 9—Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 150). Accentuada congestão (compare com a Fig. 1, Est. 18). As cellulas do parenchyma, menos abundantes que no orgão normal, são porém, mais numerosas que nas primeiras 21 hs. de immunisação (compare com a Fig. 3, Est. 19).

Fig. 10—Medulla ossea no fim do 3º dia de immunisação (coelho 150). Focos de regeneração dos elementos encerrando hemoglobina (focos perivasculares de erythroblastos (normoblastos).

Fig. 11—O mesmo córte representado na Fig. 9, visto com forte augmento. As cellulas do parenchyma mais abundantes são myelocytos.

Estampa 22.

Fig. 12—Medulla ossea no fim do 5º dia de immunisação (coelho 367). Hyperplasia das cellulas do parenchyma, das quaes as mais abundantes são leucocytos polymorphonucleares. As cellulas gordurosas mostram a reconstituição do seu conteúdo gorduroso. O edema do reticulo acha-se em grande parte reabsorvido.

Fig. 13—Medulla ossea no fim do 7º dia de immunisação (coelho 218). Congestão pronunciada e disposição perivascular das cellulas do parenchyma.

LITTERATURA

ACHARD et BENSAUDE —(cit. por JATTA) Sur la présence de la propriétè agglutinante dans le plasma sanguin et dans les divers liquides de l'organisme. Acad. des Scienc. 28 Sept. 1896. Archives de Med. exper. Nov. 1896.

ASKANAZY, M. —Ueber die Lymphfollikel im menschlichen Knochenmark Virchow's Arch., Bd. 220, p. 257, 1915.

BACHMANN, A. —Immunité anti-infectieuse. Présence de substances spécifiques dans les leucocytes des animaux immunisés. Rev. de la Assoc. Med. Argent., vol. 29, 1918, p. 519.

BACHMANN, A. —Présence de substances spécifiques dans les leucocytes des animaux immunisés. C. R. Soc. Biol., 82:1031, 1919.

BORDET —Les Leucocytes et les Propriétés Actives du Sérum chez les Vaccinés. Ann. Inst. Pasteur, 1895.

CARREL, A. and INGEBRIGTSEN, R. —The Production of Antibodies by Tissues living outside of the Organism. Jour. Exper. Med., 1912, 15, p. 287.

CUTLER, E. —The Relation of the Hypophysis to Antibody Production. Journ. Exper. Med., 1922, 22, p. 243.

DEUTSCH, L. —Contribution á l'élude de l'origine des anticorps typhiques. Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 13, 1899, p. 689. Wiener med. Presse, 1899.

DOMINICI, M. —Sur l'Histologie de la Rate au Cours des États Infectieux. Arch. de Méd. Expér., 12, 1900, p. 733.

DOWNEY, H. u. WEIDENREICH, F. —Ueber die Bildung der Lymphocyten in Lymphdrüsen u. Milz. Arch. f. mik. Anat., 1922, Bd. 80, p. 306.

DUNGERN —Die Antikörper, (cit. de STENSTROM), JENA, 1902.

ECKER, E. P. and GOLDBLATT, H. —Thyroidectomy and Parathyreoidectomy with Relation to the Development of Immune Substances. J. of Exp. Med., 1921, 34, p. 275.

EMDEN, J. E. G. —Uber die Bildungsstätte der agglutinirenden Substanzen bei der Infektion mit Bacillus aërogenes. Ztsch. f. Hyg., Bd. 30, 1899, p. 18.

van EMDEN, J. E. G. —The Reaction of the Spleen in Acute Infections. Johns Hopkins Hosp. Bull, n. 310, p.ç 356, 1916.

FOÁ, P. —Beitrãg zum Studium des Knochenmarks. Beiträge zur path. Anat. u. z. allg. Path., 1899, Bd. 25, p. 376.

FONSECA, MOREIRA da —Origem lymphocytaria dos anticorpos. Arch. Bras. Med., 1912, An. 2, n. 6, p. 688.

GAY, F. P. and RUSK, G. Y. —Studies on the Locus of Antibody Formation. Transactions of the XVth Internat. Cong. Hyg. and Demogr., 1912, ii. p. 328.

GRUBER —(cit. por JATTA). Wiener Klin. Wochnschrift, 1896, nº. 11/12. Münch. med. Woch., 1897, nº. 17/18. Münch med. Woch., 1896, May.

GUERRINI, G. —Delle mod. istolog. d. organi nel corso dell'immunita sprimentale Res. em Journ. de Phys. e de Path. Génér. 1903, p. 451.

HEKTOEN, L. —Harvey Society Lectures, New-York, 1909-1910.

HEKTOEN, L. —On the Local Production of Antibodies. Journ. Infect. Dis., 1911, vol. 9, nº. 2, p. 103.

HEKTOEN, L. —The Effect of Benzene on the Production of Antibodies Journ. Infect. Dis., 1916, vol. 19, p. 69.

HEKTOEN, L. —Further Studies on the Effects of the Roentgen Ray on Antibody-Production. Journ. of Infect. Dis., 1918, v. 22, p. 29.

HEKTOEN, L. —Effects of Roentgenization and Splenectomy on Antibody-Production. Journ. of Infect. Dis., 1920, v. 27, nº. 1, p. 23.

HEKTOEN, L. —Further Observations on the Effects of Roentgenization and Splenectomy on Antibody-Production. Journ. Infect. Dis., v. 27, 1920, nº. 1, p. 23.

HOUSSAY e SORDELLI —Sensibilité des animaux éthyroïdés envers les toxines et le B. dipht. Formation d'anticorps chez les animaux éthyroïdés. Res. in Bull. Inst. Pasteur, 1922, T. 20, nº. 4, p. 157.

HOWELL, K. M. —The Failure of Antibody Formation In Leukemia. Arch. of Int. Med., 1920, v. 26, nº. 6, p. 706.

JATTA, M. —Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Milkroorganismen der Coligruppe. Zeitsch. f. Hyg., Bd. 33, p. 185, 1900.

JOTTEN, K. W. —Der Einfluss wiederholter Aderlösse auf die Antikörperbildung. Arbeiten a. d. Reichsgesundheitsamte, Bd. 52, 1920, H. 4, p. 626.

KRAUS, R. u. LEVADITI, C. —Sur l'Origine des Précipitines. C. R. l'Acad. d. Sciences, vol. 138, p. 865, 1904.

KRAUS, u. SCHIFFMANN —Sur l'Origine des Anticorps Précipitines et Agglutinines. Ann. Inst. Pasteur, p. 225, 1906,

LENGEMANN, P. —Knochenmarkveränderungen als Grundlage von Leukocytose und Riesenkernverschleppungen (Myelokinese). Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path, Bd, 29, S. 1, 1901.

LEVADITI, C. e BANU, G. —Importanza della lesione locale provocata dai vaccini nella genesi degli anticorpi agglutinanti. Res. in Pathologica, vol. 14, nº 322, p. 246, 1922.

LIPPMANN —Ueber die specifische Stimulation der antikörperbildenden Organe bei Infektionskrank. Deutsch. Med. Wochenschrift, Bd. 2, nº. 37, p. 1693, 1911.

LIPPMANN —Stud. ü. die Steigerung d. Resistenz u. d. Antikörpergehalte durch Knochenmarksreizmittel: Thorium X, Arsenikalium u. s. w. Zeitsch f. Exp. Path. u. Ther., 1914, 16, p. 124.

LONGCOPE, W. T. —A Study of the Bone-marrow in Typhoid Fever and others Acute Infections. Bull. of the Ayer Clin. Lab. of the Penna. Hosp., 1915, II, 1 (cit. por EVANS (1916).)

LUDKE, H. —Ueber Antikörperbildung in Kulturen lebender Körperzellen. Berliner klin. Wochenschrift, 1912, nº. 22, p. 1034.

METALNIKOW, S. et GASCHEN, H. —Immunité cellulaire et humorale chez la chenille. Ann. Inst. Pasteur, 1922, T. 36, p. 233.

M. GOWAN, J. P. —The Fate of Hen Corpuscles when Injected Intravenously into Rabbits, with some Considerations as to the Seat of the Formation of Immune body Journ. Path. a Bact., vol. 14, p. 379, 1909.

MUIR, R. —On the Relation of the Bone-marrow to Leucocyte Production and Leucocytosis. Jour. Path. and Bact., 1901. VII, p. 191.

MULLER, L. —Recherches sur le lieu et le mode d'origine des cytolysines naturelles (alexines et ambocepteurs normaux) et les moyens d'en provoquer l'hypersécrétion. Centralb. f. Bakt., I. abt. Orig. vol. 57, p. 577, 1911.

OSHIKAWA, K. —Antikörperbildung durch Transplantate, Zeitsch. f. Imm. u. exper. Therap. Orig. Bd. 33, H. 4/5, 1921, p. 297.

PENTIMALLI, F. —Studi sull'intossicazione proteica. VIII—Alterazione morfologiche del sangue. Haematologica, v. II, fasc. III, 1921.

PFEIFFER, R. u. MARX. —Die Bildungsstätte der Choleraschutzstoffe. Ztschr f. Hyg. u. Infektionskr., 1898, Bd. 27, p. 272.

PFEIFFER, R. u. MARX. —Untersuchungen über die Bildungsstätte der Choleraantikörper. Deutsche Med. Wochenschrit, 1898, nº. 3, Januar, p. 47.

ROBERTSON, O. and ROUS, P. —Sources of the Antibodies Developing after Repeated Transfusion. Journ. Exp. Med., 1922, v. XXXV, nº. 2, p. 141.

ROMER —Experimentelle Unters. ü. Abrin (Jequiritol)—Immunität als Grundlagen einer rationellen Jequirity-Therapie. Arch. f. Ophthalmol., 1901, 52, p. 72.

SAHLI, H. —Nature a. Origin of Antibodies. Schwel. Med. Wochenschr. 1920, 50, p. 1129, Res. em J. Am. Med. Ass. 76: 344, Jan. 29, 1921, 76: 483, 1921, e J. Am. Med: Ass. 76: 1373.

SCHRIDDE, H. —Die blutbereitenden Organe in L. ASCHOFF's Pathol. Anatomie, Fünfte Aufl., 1921.

SELLING, L. —Benzol as a Leucotoxin. Studies on the Degeneration and Regeneration of the Blood and Haematopoietic Organs. Johns Hopkins Hosp. Reports, 1916, vol. 17, p. 83.

SESTINI, C. —Sulla attività della ghiandola tiroide nel processo immunitario. Lo Sperimentale, Fas. I—III, p. 79, 1922.

SIMONDS J. P. and JONES H. M. —The Influence of Exposure to Rōentgen-Rays on the Formation of Antibodies. J. Med. Res., 33:183, 1915.

SIMONDS, J. P. and JONES, H. M. —The Effect of Injections of Benzol upon the Production of Antibodies. Journ. Med. Res., 1915—16, 33, p. 197.

STENSTROM, O. —Ueber die Einwirkung des Exsudatleukocyten auf die Antikörperbildung. Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 8:483, 1911.

TISCORNIA, G. —Action spéciale des leucocytes dens la réaction d'immunité. Res. em Arch. Mal. d. Coeur, 1921, nº. 11, 512. La Riforma Medica, 1921, p. 196.

TSUKAHARA, J. —Verlauf der Agglutininbildung bei Infektion normaler u. immunisierter Tiere. Zeitsch. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 32, nº. 5, p. 410.

TSURUMI, M. u. KOHDA, K. —Ueber die Bildungsstätte des komplementbindenden Antikörpers. Zeits. f. Immunitätforsch. Orig., Bd. 10, p. 519, 1913.

WALBUM, L. E. —Action exercée par le chlorure de manganése et d'autres sels métalliques sur la formation de l'antitoxine diphtérique et l'agglutinine du B. coli. Bull. Inst. Pasteur, 1922, T. 20, nº. 4, p. 165.

WASSERMANN, M. —Pneumococcenschulzstoffe. Deuts. Med. Woch., 1899, n. 9, p. 141.

WASSERMANN. u. CITRON —Ueber die Bildungsstätten der Typhus-immunkörper. Ein Beitrag z. Frage der lok. Immunität der Gewebe. Ztsch. Hyg. u. Infektionkr., 1905, 50, p. 331.

ZINSSER, H. —Infection and Resistance. Second Ed. Rev. The Macmillian Co., 1918.

Sobre a perda da acido-resistencia e a desagregação granular nos bacillos de KOCH em culturas antigas

pelo

DR. A. FONTES

Chefe de Serviço

A observação das culturas do bacillo da tuberculose em meios liquidos nos mostra que á proporção que as culturas envelhecem os corpos microbianos se depositam no fundo do vaso onde se procede a cultura.

Por observação microscopica esses corpos microbianos se apresentam alterados com aspecto mais granuloso que nas culturas em bôas condições de desenvolvimento, ao lado de numerosas granulações livres, o que deixa presumir a autolyse microbiana no meio cultural.

Este phenomeno que é constante comporta diversas interpretações:

1º)—Serão os corpos microbianos alterados á custa do phenomeno «autolyse cadaverica»?

2º)—Serão os corpos microbianos alterados á custa de fermentos elaborados in vivo pelo microbio?

3º)—Serão os corpos microbianos alterados por acto chimico não fermentativo, derivado, porém, de substancias elaboradas pelo virus?

4º)—Exercerá a composição chimica do meio acção manifesta sobre esse phenomeno de pseudo-autolyse?

5º)—A alteração morphologica dos bacillos e consequente desagregação granular estarão ligadas ás condições de vitalidade do virus?

1º)—A autolyse cadaverica é phenomeno de ordem geral que, considerado como consequente á acção fermentativa intimamente ligada ao estado physico da materia organisada, tem sido estudado na independencia de causas exteriores que por elle possam ser responsabilisadas.

A autolyse aseptica dos orgãos mostra que os fermentos que organisam a vida como os fermentos que derivam da morte reproduzem no microcosmo cellular a actividade da materia consubstanciada na energia bio-chimica.

Com os elementos bacterianos, entretanto, a observação parece demonstrar que na ausencia de causas estranhas o

phenomeno da autolyse é excessivamente lento.

A observação de culturas abandonadas em estufa ou mesmo no meio ambiente, desde que se *conservem sem contaminação,* nos mostra que os germens, ainda que alterados em sua forma, por vezes mesmo não reconheciveis morphologicamente, ainda se deixam tingir pelos corantes de anilina, indicando que, se de facto se iniciou a desagregação da materia organisada, ella não foi completa.

O que se observa de um modo geral com o cummum das bacterias mais resalta no caso particular do bacillo de KOCH.

As culturas do bacillo da tuberculose em meios solidos, ainda que mortas pela acção do tempo, deixam quando examinadas no microscopio que se verifique a integridade da grande maioria dos germens, ás vezes com fórmas involutivas, mais granulosas que nas culturas em pleno viço mas sempre reconheciveis, na unidade corpo microbiano. Ao lado dessas fórmas as granulações isoladas são muito mais numerosas que nas culturas em desenvolvimento.

Nas culturas antigas em meios liquidos a desagregação granular e a alteração dos germens é mais notavel.

Não se póde entretanto considerar esse phenomeno como uma lise perfeita do corpo microbiano por isso que as granulações são sempre reconheciveis em sua fórma, mesmo em culturas antigas de mais de 2 annos.

Observa-se a alteração da fórma dos bacillos, verifica-se a libertação das granulações mas não se constata de modo inconcusso a diluição e o desapparecimento das substancias preteinicas que constróem o corpo da granulação.

Uma longa observação me permitte concluir que «*Na independencia de causas extranhas que para esse fim intervenham as granulações do bacillo de KOCH não se diluem por autolyse cadaverica.*

2º — A pesquiza de fermentos elaborados pelas culturas da tuberculose tem resultado quasi improficuo.

BAUDRAN (1) reconheceu a existencia de uma anaeroxydase, revelavel pela agua gayacolada operando com o alcool absoluto sobre bacillos vivos.

CARRIERE (2) encontrou uma lipase analoga ou identica á lipase estudada por HENRIOT, reconhecivel por decompor a monobutyrina.

As investigações que em 1911 orientei, (FONTES (3)) usada a technica de MALFITANO (4) foram inteiramente negativas em relação á existencia de fermentos proteolyticos, zymases e oxydases.

E de facto, a experimentação feita acha-se de accordo com o que se observa nas culturas antigas. Se o envelhecimento das culturas torna mais abundantes as granulações isoladas, corrobora essa observação a idéa de ausencia de fermentos capazes de as digerir. Tambem não se pode admittir que a desagregação das granulações e a alteração dos bacillos se dê nas culturas em virtude da acção da lipase encontrada por CARIÉRE.

Sendo a producção da lipase um acto vital do germen deveria esse fermento exercer sua acção *in vivo* e, por consequencia os germens não conservariam a sua integridade morphologica nas lesões.

Ora, sabemos que ahi só a acção da lipase cellular especifica é capaz de alterar a morphologia do bacillo (FONTES) (5) FIESSINGER e MARIE (6).

Um outro argumento deriva do seguinte facto. No periodo mais pujante do desenvolvimento da cultura, o acmé da vitalidade é representado pela maior riqueza, nos caldos das culturas, dos productos elaborados pelo germen e entretanto nesse periodo os corpos bacillares se apresentam bem constituidos, sendo relativamente escasso o numero de granulações desagregadas.

«*O contrario deveria succeder se essa desagregação dependesse de um fermento, elaborado pelo corpo microbiano*»

3º — A terceira hypothese até certo ponto elucida os phenomenos em questão.

A composição chimica do bacillo da tuberculose nos demonstra ser esse organismo rico em alcoos superiores, acidos graxos não saturados e phosphatides diversos.

In vitro pode-se demonstrar a acção clivante e mesmo litica de algumas dessas substancias.

A cholesterina, a lecithina e as bases quaternarias ammoniacaes são substancias que quando, em condições particulares, postas em contacto com culturas de tuberculose, manifestam sua acção dissolvente, sobre os corpos microbianos.

A observação de DEYCKE e MUCH (7) nesse sentido tem sido corroborada por investigações posteriores unanimes. Assim nas culturas da tuberculose a libertação desses principios que, ainda que lentamente, se diffundem no meio liquido, permitte a dissolução dos lipoides microbianos e consequente libertação das granulações. E, de facto, é propriedade geral dos lipoides se dissolverem mutuamente (IVAR BANG (8)).

Os phosphatides e as gorduras teem essa propriedade accentuada e os acidos graxos não saturados, assim como, seus sabões soluveis são fortemente activos.

Ainda que a tendencia actual seja para approximar essas reacções bio-chimicas das reacções por fermentos soluveis, devemos antes consideral-as como reacções de saponificação ou hydrolyse chimica não fermentativa, por isso que são acceleradas com a elevação de temperatura incompativel com a acção dos fermentos.

E' o que se conclue da acção da bile de boi e de lipoides diversos do oleo de figado de bacalhau que exercem acção desagregante e algum tanto litica sobre os bacillo de KOCH em temperatura proximas á de 100º C.

Assim pois, a «*constituição chimica do bacillo de KOCH, sua riqueza em alcoos superiores, gorduras e phosphatitides e a diffusão desses lipoides nos meios de cultura explicam a alteração morphologica dos bacillos e a libertação das granulações na independencia de acção fermentativa*».

4º—As culturas de tuberculose se desenvolvem em meios nutritivos das mais diversas origens e variada composição chimica.

Meios de origem animal, meios vegetaes ou mesmo chimicamente definidos, permittem o desenvolvimento de culturas em que os bacillos guardam as suas principaes caracteristicas: a acido-resistencia e a estructura granular.

Não quer isso dizer que se não possa obter modificação da fórma e da estructura do bacillo desde que a composição chimica do meio nutritivo possa alterar as modificações biologicas do germem, como succede com os meios fortemente glycerinados ou com aquelles em que se addicionam lipoides de varias origens. Mas, nesses casos, as culturas que se desenvolvem, profundamente alteradas em suas condições biologicas, não podem ser considaradas como culturas normaes. Mesmo assim, em algumas dellas, como succede com as culturas homogeneas, desde que cesse de agir a causa perturbadora do desenvolvimento normal da cultura, volta esta ao typo originario, permittindo que sejam observadas as formas microbianas com as suas caracteristicas peculiares.

Nas culturas homogeneas o abandono da cultura e a parada da agitação diaria permitte a formação de pelle constituida por bacillos que readquirem a sua acido resistencia e estructura granular.

A variabilidade da reacção chimica do meio cultural que segundo decorre da observação de TH. SMITH (9) em culturas do typo bovino é correlata ao

prazo de desenvolvimento da cultura, não exerce acção apreciavel sobre os phenomenos em questão, pois que as culturas de seis semanas, achando-se em plena maturidade, tendo soffrido duas vezes a inversão da reacção chimica do meio apresentam as fórmas microbianas em perfeito estado de integridade estructural.

Assim «*quando a cultura de tuberculose é collocada em condições normaes de desenvolvimento, nem a composição chimica do meio nem a alteração da reacção parecem ter influencia manifesta na producção da alteração morphologica do bacillo e na desagregação das granulações.*

5º—Do estudo das culturas de tuberculose em meios artificiaes é muito difficil se poder concluir que a alteração morphologica dos bacillos e a desagregação granular dependem exclusivamente das condições proprias a vitalidade do virus.

De facto nas proprias culturas homogeneas, em que assistimoos ás profundas modificações da forma e da virulencia do bacillo de KOCH o desenvolvimento da cultura é facilitado pelas transplantações successivas. Entretanto, em condições normaes de desenvolvimento em meios artificiaes, o envelhecimento das culturas determina o apparecimento de maior numero de formas alteradas que o existente nas culturas em pleno viço.

E' o que é notavel, seja qual fôr o prazo de envelhecimento desde que a cultura permaneça viva, ainda que se possa constatar um certo gráo de attenuação do virus, não perde elle o seu poder infectante.

Da observação da infecção tuberculosa resalta, entretanto, que a variabilidade morphologica do virus obedece até certo ponto, a resistencia que o organismo oppõe ao seu desenvolvimento.

Na infecção tuberculosa pulmonar chronica a forma granular é observada com maior frequencia que nos casos de evolução aguda ou sub-aguda, e essa verificação é mais facil nos cavitarios antigos.

A constatação da forma granular no pus de origem tuberculosa, a presença dessa forma nos casos de lupus, a variedade das formas acido-resistentes nessas lesões são factos accordes em indicar certa relação de causa e effeito, permittindo presumir ser a forma granular a forma de resistencia do virus, que o representa na sua forma residual infectante.

A acido-resistencia é caracter adquirido com o cyclo de desenvolvimento vital do germen. Nas culturas recentes como nas antigas falha tal caracteristica sem que por tanto deixem ellas de ser infectantes.

As granulações existem sempre nessas culturas. Se acaso nas culturas recentes as granulações apresentam uma estructura menos condensada, parece achar-se isso ligado a reproducção do bacillo com a producção de granulos menores que derivam dos outros.

O estudo da cytologia do bacillo mostra que a funcção que a granulação exerce na reproducção bacillar é essencial (FONTES) (1)). Ora sendo a granulação o ponto de origem da organisação do corpo bacillar, sendo ella eliminada do corpo microbiano constituindo novos centros de desenvolvimento cultural, não sendo ella destruida pelas causas communs de destruição inherentes aos meios de cultura taes como exgottamento do meio, acção de fermentos eloborados pela cultura, alteração das condições physico-chimicas do meio nutritivo, é logico admittir que «*o augmento e libertação das granulações do bacillo da tuberculose, nas culturas antigas, representa o esforço de resistencia que o virus oppõe ás causas perturbadoras de sua vitalidade*».

BIBLIOGRAPHIA

1º)—BANDRAN, M. G. —Compt. rend. acad. d. sci. T. 142. pag. 657—659—*1906.*

2º)—CARRIERE —Compt. rend. soc. biol. 1901—nº 11

3º)—FONTES, A. —Mem. do Inst. Osw. Cruz—T. III. Fasc. II. pags. 195—219—1911.

4º)—MALFITANO G. —Annaes de l'Inst. Pasteur. T. XLV. 2e. Memoire—1900.

5º)—FONTES A. —op. c. pg. 207.

6º)—FIESSENGER N. —N.-et Marie-Pierre Louis-Les ferments digestifs des leucocytes—1910.

7º)—DEYCKE und MUCH —Munch. Med. Woch. 1910. Berld. Klin. Woch. 1910-nº 421.

8º)—BANG, IVAR —Chemie und Biochemie der lipoide—1911.

9º)—TH. SMITH —Journ. med. research.-Vol. 13 nº 3. 1905.

10º)—FONTES, A. —Mem. do Inst. Osw. Cruz. T. II. Fasc. II. pags. 186—206—1910.

Estudos sobre Protozoarios do mar

pelos

Drs. J. GOMES DE FARIA, A. M. DA CUNHA e CESAR PINTO.

(Est. 23—25).

Introdução.

O primeiro trabalho sobre protozoarios de agua doce do Brasil data de 1841 e deve-se a EHRENBERG que assignalou as tres especies seguintes: *Centropyxis aculeata, Euglypha alveolata* e *Trinema enchelys*.

DADAY (1905) descreveu duas especies novas de protozoarios de agua doce provenientes do estado de Matto Grosso.

Em 1910 S. von PROWAZEK estudou noventa e uma especies provenientes dos arredores do Instituto Oswaldo Cruz (Manguinhos) e de algumas localidades do estado de São Paulo.

ARAGÃO, HARTMANN e CHAGAS (1909—1910) descreveram especies novas e estudaram a citologia de rhizopodes e flagellados de agua doce do Rio de Janeiro.

WAILES (1912) assignala trinta e oito especies de protozoarios de vida livre do Brasil.

A. M. DA CUNHA em 1913 classificou duzentas e vinte especies das quaes doze ainda ineditas.

GOMES DE FARIA, CUNHA e O. DA FONSECA estudaram protozoarios da agua do mar da bahia do Rio de Janeiro e do Oceano Atlantico até Mar del Plata, registando especies novas para o Plankton sul-americano.

O presente estudo foi feito de material preveniente da agua do mar da bahia do Rio de Janeiro e imediações da Ilha Grande.

Os protozoarios estudados são principalmente aquelles encontrados na agua do mar pelo exame directo ou que se desenvolviam quando a agua era conservada em crystalisadores mantidos no laboratorio. Não figuram aqui os protozoarios planktonicos já assignalados em trabalho anterior.

Classe: *Sarcodina* Hertw., et Lesser.
Sub-Classe: *Rhizopoda* von Siebold.

Ordem: *Amoebina* Ehrenberg.
Familia: *Paramoebidae* Doflein.

1. Paramoeba schaudinni nov., sp.
(Est. 23 e 24, Figrs. 1–11).

Em um dos nossos pequenos aquarios de agua do mar contendo numerosos flagellados e quando estes começavam a rarear, encontramos uma *Paramoeba* que descrevemos como especie ainda não conhecida.

Este rhizopode semeiado no meio que passamos a descrever, cultivou-se facilmente conservando-se a cultura do protozoario durante mezes.

O meio empregado era constituido por uma infuzão de folhas de couve em agua do mar filtrada, á qual se addicionava 0,5% de agar, esterelisada e distribuida em placas de Drygalski onde eram feitas as culturas.

O estudo da *Paramoeba* foi feito a fresco e em preparados fixados pelo sublimado alcool de SCHAUDINN e corados pelo methodo classico de HEIDENHAIN.

Em estado vivo (Est. 23, Fig. 1) o rhizopode apresenta forma muito variavel, distinguindo-se facilmente um ectoplasma hyalino e refringente, e um endoplasma granuloso e vacuolisado. Em repouso o ectoplasma forma uma camada de espessura mais ou menos uniforme em torno do endoplasma, quando em movimento o ectoplasma que constitue principalmente os pseudopodes fica reduzido nos outros pontos do corpo a uma zona muito limitada.

Os vacuolos do endoplasma são de tamanho variavel e de disposição irregular. Aqui não é possivel distinguir no endoplasma como acontece na *Paramoeba eilhardi* SCH., duas zonas, uma central de vacuolos grandes e outra peripherica de vacuolos pequenos.

Vacuolo pulsatil não foi observado como acontece tambem com a *Paramoeba eilhardi* SCH., facto este que occore commumente entre os protozoarios marinhos.

Os pseudopodes formam-se lentamente e irregularmente em qualquer ponto da superficie do corpo sendo muito variaveis em fórma e aspecto; ora são curtos e dão ao animal um aspecto mamelonado, ora são longos prolongamentos digitiformes, ás vezes tão extensos como o restante do corpo, dando ao rhizopode uma figura irregularmente estrelada.

O nucleo, visivel mesmo durante a vida da *Paramoeba* fica situado no endoplasma, geralmente proximo do centro do corpo do protozoario (Est. 23, Fig. 1). Apresenta-se sob a forma de vesicula clara, redonda, medindo cerca de tres a quatro micra de diametro, no centro do qual observa-se o caryosoma tambem redondo e que occupa a maior parte do nucleo. Junto deste observa-se uma formação para a qual propomos o nome de *paranucleo (Nebenkörper* de SCHAUDINN) que apparece a fresco sob a forma de um corpusculo refringente cercado de halo claro (Est. 23, Fig. 1).

Em preparados corados pela hematoxilina ferrica de HEIDENHAIN, a distinção entre endoplasma e ectoplasma torna-se menos nitida sendo comtudo apreciavel em alguns exemplares (Est. 23, Fig. 2). A estructura do plasma é identica á descripta no animal vivo porém mais accentuada.

O nucleo apresenta um grande caryosoma redondo que occupa a maior parte delle. Em redor do caryosoma, separando este da membrana nuclear existe um halo claro que constitue a zona do succo nuclear.

Partindo do caryosoma, observam-se muitas vezes trabeculas de linina que vão ter á peripheria do nucleo (Est. 23, Figrs. 2 e 3).

O paranucleo *(Nebenkörper)* é elipsoide, alongado e acha-se colocado junto ao nucleo principal, apresentando-se

sob dois aspectos differentes. Em alguns individuos apresenta uma parte media, intensamente corada pela hematoxilina ferrica, em forma de faixa transversal. De cada lado dessa parte media existem duas callotes fracamente coradas nas quaes se observam duas granulações intensamente coradas (centrosomas) ligadas muitas vezes por um filamento (centrodesmose) que atravessam a parte mediana. Em alguns individuos observamos em lugar de uma granulação, duas granulações de cada lado ligadas ás granulações do lado opposto por dois filamentos (Est. 23, Fig. 3). Em outros casos o paranucleo appresenta uma parte media e maior achromatica, sendo que a parte chromatica é representada por duas faixas que se dispõem nos polos do paranucleo (Ests. 23 e 24, Figrs. 6, 7 e 8). Nestes casos não se observam granulações. Acreditamos que esta forma esteja ligada ao processo de divisão do paranucleo.

A multiplicação do protozoario se dá por divisão binaria e não foi possivel observar de modo a não deixar duvida qualquer outro processo de multiplicação. A divisão do plasma é sempre precedida da divisão do nucleo e do paranucleo como demonstram as figuras 6 e 7 das Ests. 23 e 24 onde se observam exemplares indivisos do rhizopode com dois nucleos e dois paranucleos.

As divisões do nucleo e do paranucleo se fazem quasi sempre simultaneamente, entretanto observamos exemplares como o representado na Fig. 8 Est. 24 com um nucleo unico e dois paranucleos, e que mostra a divisão precoce desta organella.

A divisão do nucleo bem como a do paranucleo se faz independentemente.

Conseguimos sómente observar dois estadios da divisão nuclear.

Em um, representado na Fig. 4, Est. 23 vê-se uma placa equatorial constituida de cerca de oito chromosomas em forma de granulações. Esta placa acha-se situada em um espaço claro sem que se possa observar a existencia de um fuso. Em outro exemplar (Est. 23, Fig. 5) vê-se nitidamente um fuso achromatico com centriolos nos polos. A chromatina acha-se distribuida em duas placas polares constituidas de cerca de oito chromosomas cada uma, tendo estes a forma de pequenos granulos.

Sobre o processo de divisão do paranucleo muito pouco pudemos observar. O paranucleo divide-se em geral simultaneamente e independentemente do nucleo, podendo em alguns casos se dividir antes do nucleo como já ficou dito ácima. O contrario isto é, divisão do nucleo antecipando á divisão do paranucleo, nunca foi observado.

Nos exemplares em que observamos phases de divisão do nucleo, o paranucleo se apresenta alongado, tendo em cada extremidade uma serie de granulações chromophilas, ligadas por uma parte achromatica de estructura fibrilar lembrando um fuzo (Est. 23, Figrs. 4 e 5).

Nas culturas de *Paramoeba schaudinni*, encontramos muitas vezes, ao lado de exemplares grandes como os que descrevemos ácima, outros com morphologia semelhante, porém muito menores (Est. 24 Fig. 9). Assim ao passo que os grandes individuos apresentam diametro de mais de 15 micra, os pequenos medem 6 a 7 micra de diametro. Esses exemplares pequenos apresentam-se em geral grupados (Est. 24, Fig. 9) e parecem provir da multiplicação intensa do rhizopode. Em favor dessa opinião fala o aspecto do paranucleo que se apresenta sempre com placas chromaticas polares, estadio que como já vimos parece ligado á divisão dessa organella.

Não conseguimos esclarecer a natureza dessas formas, si se tratam de gametos ou de individuos destinados a se transformarem em formas flagelladas.

Observamos uma vez um individuo representado na (Est. 24, Fig. 10) em que se vê um aspecto lembrando uma fusão de dois nucleos ou de um nucleo com o paranucleo. Comtudo não foi possivel observar outros estadios que confirmassem a interpretação desse phenomeno como um processo de caryogamia.

Nas culturas em que abundavam as fórmas pequenas da *Paramoeba* muitas vezes observamos um individuo grande tendo no interior uma ou mais fórmas pequenas com tres micras por quatro de diametro, isto é os menores exemplares constatados.

Na (Fig. 11 da Est. 24) representamos um desses exemplares com nucleo e paranucleos, tendo no interior quatro pequenas *Paramoebas*. A nosso ver esse phenomeno só póde ser interpretado de duas maneiras: ou as pequenas *Paramoebas* se formam a custa da grande em cujo interior são encontradas, por processo de gemulação interna; ou ellas são ingeridas pelo individuo grande em falta de outro alimento mais apropriado *(Canibalismo)*. Realmente as *Paramoebas* são muito vorazes e em seu interior se encontram frequentemente pequenos flagellados quando estes existem nas culturas. Em favor dessa ultima hipoteze fala o facto de se encontrar numero variavel de pequenas *Paramoebas* no interior das grandes e de se verificar como aconteceu uma vez ao lado das pequenas *Paramoebas* um individuo de uma especie de *Gymnodinium* que apparecia ás vezes nas culturas do rhizopode.

Em nossas pesquizas, embora tivessimos dedicado especial attenção a este ponto, nunca nos foi dado observar fórma flagellada que pudesse ser interpretada como fazendo parte do cyclo evolutivo do rhizopode. Por vezes, flagellados appareciam nas culturas, mas o estudo dessas fórmas em preparados corados nunca revelou a presença de paranucleo, caracter que permittiria interpretal-as como estadios da evolução da *Paramoeba*.

Tambem nunca observamos fórmas de enkystamento do referido rhizopode.

Sobre a funcção que desenpenha o paranucleo na vida do protozoario, não foi possivel constatar novos factos que pudessem esclarecer o papel até hoje ainda obscuro dessa interessante organella.

SCHAUDINN considera o paranucleo *(Nebenkörper)* como homologo do centrosoma desempenhando o papel de componente locomotor na divisão da fórma flagellada da *Paramoeba eilhardi* SCHAUDINN.

Uma opinião semelhante é sustentada por CHATTON.

JANICKE que estudou detalhadamente duas especies de *Paramoeba (P. pigmentifera* GRASSI e *P. chaetognati* GRASSI) encontradas parasitando chaetognathas, considera o paranucleo que elle denomina de *nucleo secundus*, como um segundo nucleo modificado talvez por processo de degeneração. Para JANICKE a parte media do paranucleo *(Mittelstueck)* que segundo suas pesquizas possue membrana propria constitue por si só um nucleo; as partes lateraes são para elle calotas de archoplasma tendo no seu interior os centrosomas.

Nas nossas pesquizas não verificamos nenhum facto que nos auctorisasse a considerar o paranucleo como centrosoma e acreditamos mais que esta organella represente um segundo nucleo como quer JANICKE, em estado de divisão permanente; sómente pomos em duvida o carater degenerativo que JANICKI atribue ás modificações do paranucleo.

Existe até agora uma unica especie de *Paramoeba* de vida livre que é a especie typo do genero *(Paramoeba eilhardi*

SCH)., vivendo na agua do mar como a nossa.

A especie aqui estudada differe da descripta por SCHAUDINN, pelo nucleo cujo caryosoma muito grande reune em si quasi toda a chromatina, ao passo que na *Paramoeba eilhardi* esta é bem desenvolvida e representada por innumeros granulos na zona do succo nuclear. Além disso, a nossa especie nunca attinge as dimensões maximas dadas por SCHAUDINN para a *Paramoeba eilhardi* e não se encontra no endoplasma duas zonas differenciadas pelas dimensões dos vacuolos.

Classe: *Mastigophora* DIESING.
Sub-classe *Flagellata* CLAUS.
Ordem: *Rhizomastigina* BUTSCHLI.

Familia: *Ciliophryidae* POCHE, 1913. FARIA, CUNHA et PINTO, emend. 1922.
Syn.: *Helioflagellidae* DOFLEIN 1916. *In* LEHRB. d. Protoz. 1916. pp. 711—2.

POCHE em 1913 creou esta familia que incluiu entre os Heliozoarios comprehendendo nella sómente o genero *Ciliophrys CINK.*

DOFLEIN em 1916 constituiu com os generos *Dimorpha* GRUBER., *Ciliophrys* CINK., *Actinomonas* KENT e *Pteridomonas* PENARD., uma familia que denominou *Helioflagellidae* DOFLEIN., 1916.

Pensamos que DOFLEIN tem razão incluindo os generos ácima referidos em uma unica familia; sómente a denominação *Helioflagellidae* empregada por DOFLEIN não póde prevalecer por não ser derivada de nenhum nome de genero de flagellado. Assim adoptamos a designação *Ciliophryidae* proposta por POCHE derivada do genero mais antigo da familia, e damos á ella uma diagnose mais ampla do que a de POCHE, de modo a podermos incluir nella todos os generos referidos por DOFLEIN.

Embora não tenhamos adquirido factos novos para resolver definitivamente a questão da posição systematica desta familia, conservamol-a entre os flagellados e não entre os heliozoarios como fizeram POCHE e DOFLEIN.

Diagnose: Rhyzomastiginas que apresentam pseudopodes finos, rigidos, dispostos radialmente com filamento axial ou não e correntes de granulos.

Genero typo: *Ciliophrys* CIENKOWSKY, 1876.

Diagnose: flagellados possuindo dois estadios; um de heliozoario, aflagellado, sem diferenciação clara em ectoplasma e endoplasma, com pseudopodes finos, rijos, radiados, mostrando as correntes de granulos communs nos Heliozoa, vacuolo contractil presente. Segundo estadio ou fórma flagellada sem pseudopodes com um flagello anterior. Nucleo com caryosoma central e uma zona annular de chromatina peripherica.

Multiplicação por divisão binaria no estadio de Heliozoa.

Nutrição animal oligo e meso-saprobio.

2. Ciliophrys marina CAULLERY, 1909.

Descripção: Cellulas em estadio de Heliozoa de fórma espherica, irregular sem differenciação nitida em endoplasma e ectoplasma, este na sua zona mais externa com numerosos vacuolos nutritivos. O plasma mostra tambem inumeros corpusculos refringentes, pequenos, incolores.

Nucleo com caryosoma central e uma zona de chromatina peripherica ás vezes de fórma estrellada ou irradiando para o plasma.

Vacuolo excretor presente. Da superficie do corpo, irradiam em todas as direcções numerosos pseudopodes rigidos, finos, mostrando correntes de granulos; filamente axial ausente. Dimensões variando de sete a dez micra.

Cellulas em estadio flagellado, ovoides com a extremidade posterior afilada a anterior provida de um flagello pouco

mais longo que o corpo. Nucleo com a mesma estructura descripta anteriormente, collocado na extremidade anterior, proximo á base do flagello.

Protozoario um tanto raro na agua do mar da bahia do Rio de Janeiro, apparecendo em maior abundancia quando conservada a agua em crystalisadores.

Ordem: *Protomonadina* (BLOCHMANN, 1895) HART., emend.

3. Monas guttula EHRENBERG, 1830.

Esta especie foi encontrada em agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro, conservada no laboratorio.

4. Pseudobodo tremulans GRIESSMANN.

Encontrado em agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro, pouco abundante.

Cruzella nov. gen.

Diagnose: *Protomonadina* de vida livre, apresentando um flagello anterior e outro posterior, originando-se cada um delles de um corpusculo basal. Protozoario uni-nucleado.

5. Cruzella marina nov., sp.

(Est. 24, Figrs. 12—14.)

Protozoario apresentando variabilidade na fórma do corpo, sendo este fusiforme ou ovoide e pouco achatado, metabolico.

Extremidade posterior mais ou menos afilada, ás vezes arredondada e a anterior recurvada, formando um prolongamento em fórma de trompa ou rostro. Superficie do corpo revestida de periplasta fino, permittindo movimentos metabolicos.

Plasma com estructura finamente alveolar, mais notavel nas preparações fixadas. Na parte posterior do corpo observam se em geral pequenissimos vacuolos contendo particulas alimentares (ás vezes negras), a parte anterior é sempre mais hyalina e raramente provida de vacuolos.

Vacuolo contractil não foi constatado, assim como a aprehensão de alimentos.

Cruzella marina é provida de dois flagellos, um anterior e outro posterior. O anterior é mais curto e parte da extremidade anterior da trompa ou rostro, o flagello posterior nasce abaixo da base da trompa e do lado da concavidade.

Flagello anterior approximadamente do comprimento do corpo, o posterior quasi duas vezes mais longo que o protozoario.

O nucleo situado mais ou menos na parte media do corpo ou um pouco para diante, é vesiculoso contendo um grande caryosoma em geral muito compacto, no interior do qual só raramente póde ser visto o centriolo collocado na zona central mais clara.

Na zona do succo nuclear não existe chromatina peripherica. Membrana nuclear pouco clara, porém presente.

Não foi possivel seguir em todas as phases o processo de divisão nuclear neste protozoario, entretanto observamos em nossos preparados algumas phases dessa divisão que representamos nas figuras 13 e 14 da estampa 24.

Na figura 13 observa-se uma das fazes da divisão em que se vê um fuso com duas placas polares, não tendo desapparecido ainda a cario-membrana. O apparelho flagellar neste estadio de divisão do nucleo conserva-se ainda sem signal de divisão.

Na figura 14 os dois nucleos filhos já completamente constituidos conservam-se ainda ligados por centrodesmose.

Neste estadio (Fig. 14) o apparelho flagellar apparece constituido por quatro flagellos que partem de quatro corpusculos basaes ligados dois a dois por meio de rhizoplastos. A' cada par de corpusculos basaes correspondem, um flagello anterior e um recorrente.

O protozoario apresenta então inicio de divisão do plasma tomando fórma diversa da vegetativa.

Habitat: Vivi na agua do mar. da Bahia do Rio de Janeiro.

Genero: Colponema STEIN, 1873.

Diagnose: Corpo nú, não metabolico, fórma ovoide ou em S. (BUTSCHLI) regularmente achatado.

Face ventral provida de profundo sulco de bordos curvilineos, dilatando-se nas extremidades anterior e posterior do corpo. Dois flagellos, anterior e posterior, este sempre mais longo, ambos inserindo-se na extremidade anterior do sulco.

Vacuolo contractil, um ou dois na parte anterior ou meio do corpo. Alimentação e reproducção não conhecidas.

Modificamos ligeiramente a diagnose do genero em questão como dada por BUTSCHLI, KLEBS e outros para nella incluirmos a especie abaixo que tendo todos os caracteres mais importantes deste genero differe da especie typo na fórma geral.

6. Colponema globosum nov. sp.

(Est. 24, Fig. 15.)

Corpo oval, muito largo, quasi circular bastante achatado; extremidade anterior pouco mais estreitada que a posterior. Sulco ventral profundo, largo de bordos curvilineos salientes estreitando-se na parte media e dilatando-se para as extremidades, sobretudo na extremidade posterior.

Dimensões: 15 micra de comprimento por 13 a 14 de largura.

Flagellos inserindo-se no quinto anterior do corpo ao nivel do sulco ventral. Flagello anterior menor que o comprimento do corpo.

Flagello posterior duas vezes o comprimento do corpo.

Vacuolo contractil grande na metade anterior do corpo.

Plasma com pequenos corpusculos fortemente refringentes.

Não foi possivel observar este flagellado em preparados corados com o fim de estudarmos a citologia, principalmente a insersão dos flagellos afim de decidir sua verdadeira posição systematica e, só provisoriamente incluimo-lo entre as *Protomonadinas.*

Habitat: raramente observado na agua do mar proveniente da Bahia do Rio de Janeiro.

Ordem: *Binucleata.*

7. Rhinchomonas nasuta.

Encontrado ás vezes com certa abundancia em agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

Ordem: *Euglenoidea.*

8. Eutreptiella marina CUNHA, 1913.

(Est. 24, Fig. 16.)

Encontrado frequentemente em agua do mar ás vezes em abundancia. Bahia do Rio de Janeiro.

9. Calycomonas gracillis LEHMANN.

Encontrado raramente no nanoplankton.

10. Anisonema grande.

Constatado na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

11. Pleotia vitrea.

Encontrado na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

12. Marsupiogaster picta, nov. sp.

(Est. 25, Fig. 17.)

Corpo achatado no sentido dorso-ventral, mais largo na parte media, estreitando-se gradualmente para as duas extremidades, sendo a anterior mais larga e arredondada; a posterior é mais afilada não terminando em ponta aguda. A membrana apresenta finas estrias dis-

postas em espiral e dirigidas no sentido longitudinal do flagellado. O corpo do protozoario apresenta côr uniforme alaranjada. Esta coloração não está ligada á presença de chromatophoros, .parece ser divida a impregnação do plasma por uma substancia corada. O plasma apresenta grandes granulos esphericos mais ou menos regulares (Fig. 17) dispostos sobretudo na parte posterior do protozoario. Na parte anterior observa-se a bocca em fórma de abertura oval continuando-se por uma excavação sacciforme; do fundo desta excavação partem dois flagellos muito espessos e de tamanho desigual. O maior delles que tem cerca de tres vezes o comprimento do corpo, dirige-se para diante terminando em ponta fina. O outro flagello, menor que o corpo dirige-se para traz e termina como o procedente.

Habitat: Vive em agua do mar conservada em cultura apparecendo raramente. Bahia do Rio de Janeiro.

Ordem: *Chromomonadina.*

13. Wysotzkia sp.
(Est. 25, Fig. 18.)

Na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro encontramos uma *Wysotzkia* que não podemos identificar devido a falta de bibliographia.

Ordem: *Phytomonadina.*

14. Carteria sp.

Encontramos frequentemente no nanoplankton da Bahia do Rio de Janeiro uma *Carteria* semelhante á representada no trabalho de LOHMAN. Além disso encontramos fórmas como representamos na Fig. 19 com a extremidade posterior terminada em ponta, differindo sómente neste caracter da precedente.

15. Carteria minima (DANGEARD, 1888) DILL.
(Est. 25, Figrs. 20 e 21.)

Esta *Carteria* apresenta as seguintes dimensões: 10 mica de comprimento por 7 micra de largura. Na Fig. 21 representamos uma fórma de divisão semelhante á dada por DANGEARD.

Ordem: *Peridinea.*

Neste trabalho só assignalamos as especies ainda não verificadas no Plankton e referidas no trabalho sobre Plankton da Bahia do Rio de Janeiro.

16 Exuviella lima(EHRB., 1895) BUTSCHLI emend.

Verificada na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

17. Exuviella sp.
(Est. 25, Figrs. 22 e 23.)

Verificada na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

18. Prorocentrum sp.
(Est. 25, Fig. 24.)

Ás vezes abundantes constituindo mesmo plankton monotono.

Vive na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

19. Oxyrrhis marina DUJARDIN.

20. Oxyrrhis phaeocysticola SCHERFF.

Estas duas especies foram observadas na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

21. Spirodinium spirale (BERGH, 1881) SCHUTT emend.

Ás vezes abundantes na agua do mar conservada no laboratorio. Bahia do Rio de Janeiro.

Classe: *Infusoria* O. F. MULLER.
Sub-Classe: *Ciliata* PERTY.
Ordem: *Holotricha* STEIN.

22. Chaenea teres DUJARDIN, 1841.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

23. Lagynus laevis QUENN., 1867.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

24. Trachelocerca phoenicopterus COHN, 1865.

Frequente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro. Tambem constatado nas immediações da Ilha Grande.

25. Didinium balbianii BUTSCHLI, 1887-89.

Encontrado uma vez com relativa abundancia na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

26. Mesodinium pulex CLAP., et LACH., 1858-61.

Frequente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

27. Mesodinium acarus STEIN, 1862.

Fórma de agua doce encontrada ás vezes na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

28. Lionotus cygnus O. F. MULLER, 1786.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

29. Lionotus fasciola O. F. MULLER, 1786.

Fórma de agua doce, encontrada ás vezes na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

30. Loxophylum setigerum QUENN., 1867.

Raramente constatado na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

31. Chlamidodon mnemosyne EHRB., 1838.

Observado com relativa frequencia em agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro e das proximidades da Ilha Grande.

32. Aegytia oliva Cl., et LACH., 1858.

Constatada na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

33. Trochilia sygmoides DUJ., 1841.
(Est. 25, Figrs. 27—32).

Esta especie apezar de ser abundante na agua do mar, é até agora pouco conhecida. Assim HAMBURGER e BUDDENBROCK, nos ciliados do Nordiches Plankton, dão uma descripção muito resumida desse ciliado e reproduzem desenhos de DUJARDIN e CLAPAREDE e LACHMANN.

BUDDENBROCK, recentemente (1920) redescreveu e figurou esta especie que elle denomina *Ervilia sigmoides* DUJ.

A descripção de BUDDENBROCK porém, embora regular em muitos pontos é em outros insufficiente pelo que julgamos acertado incluirmos neste trabalho a redescripção dessa especie de accordo com o que nos foi dado observar.

Pensamos tambem que a denominação *Ervilia sigmoides* empregada para esta especie por BUDDENBROCK não pode prevalecer por ser este ciliado a especie typo do genero *Trochilia*.

Corpo de fórma mais ou menos oval tendo cerca de 20 micra de comprimento por 12 de largura com a extremidade anterior recurvada para a direita.

O corpo é achatado no sentido dorso-ventral sendo a face ventral plana e a dorsal convexa e com uma serie de saliencias longitudinaes (cerca de seis) ligeiramente incurvadas. A ciliação, reduzida á face ventral, é constituida por quatro linhas longitudinaes de cilios que partindo da base do prolongamento caudal correm parallelamente, ás bordas esquerda e anterior do corpo do ciliado, a pequena distancia deste, terminando no ponto de união das bordas anterior e direita.

Além desses cilios existem duas pequenas linhas de cilios dispostas paral-

lelamente que partindo da extremidade anterior e direita se dirigem para traz e para a esquerda terminando nas immediações da abertura buccal. Esta é de fórma oval continuando-se para traz e para a esquerda por um longo pharinge de fórma conica, desprovido de bastonetes. Na extremidade posterior existe um prolongamento caudal em fórma de espinho, articulado e movel. Os vacuolos contracteis são em numero de dois situados na linha mediana, junto á face dorsal. O nucleo elliptico, fica situado na parte media do corpo, mais proximo da borda direita.

Em preparados corados pelo methodo de HEIDENHAIN, vê-se que o nucleo é constituido por uma parte chromophila apresentando muitas vezes pequenos granulos de chromatina mais intensamente corados (Est. 25, Figrs. 29, 31 e 32) e de uma parte que se cora fracamente e de modo uniforme. A parte chromophila nos casos mais communs, fica situada numa das extremidades sendo a outra extremidade occupada pela parte achromatica (Est. 25, Fig. 29). Em alguns casos a parte fortemente chromophila se dispõe em faixa na parte media do nucleo (Est. 25, Fig. 30).

O micronucleo está situado junto do macronucleo e numa das extremidades (Est. 25, Fig. 29). Parece que a phase inicial da divisão do nucleo (Est. 25, Fig. 30) seja constituida por uma faixa fortemente chromophila com disposição central; em phase mais adiantada da divisão nesta faixa chromophila divide-se em duas, separando-se completatamente (Est. 25, Fig. 31). Na phase terminal da divisão observa-se o estrangulamento do nucleo (Est. 25, Fig. 32) tendo cada nucleo proveniente da divisão um micronucleo disposto na extremidade (Est. 25, Fig. 32).

O corpo do ciliado tambem apresenta divisão do plasma com as respectivas linhas de inserção dos cilios (Est. 25, Fig. 32).

Habitat: encontrado em abundancia na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

34. Dysteria monostylla EHRG., 1838.

Encontrado frequentemente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro e proximidades da Ilha Grande.

35. Dysteria compressa GOURT et ROESER, 1888.

(Est. 25, Fig. 26.)

Durante nossas pesquizas encontramos uma especie de *Dysteria* que se approxima muito da *Dysteria compressa* de GOURET et ROESER, e que pensamos não errar identificando-a á especie descripta por esses auctores.

Corpo com 45 micra de comprimento por 28 micra de largura de fórma quadrangular achatado no sentido dorso-ventral, apresentando na extremidade posterior proximo á borda direita um pequeno prolongamento ponteagudo. Protoplasma granuloso.

Cilios dispostos em linhas longitudinaes juntos á borda esquerda e anterior.

Os cilios são longos e finos, nas extremidades do prolongamento caudal, existindo alguns delles mais longos e espessos.

Appendice caudal de fórma triangular, ligeiramente curvo e disposto na borda esquerda, proximo a extremidade posterior do ciliado.

Bocca oval situada proximo ao ponto de união da borda esquerda e anterior do corpo, continuando-se para traz e para a direita por um longo pharinge em fórma de tubo conico que se prolonga até proximo da extremidade posterior.

Nucleo oval alongado e collocado obliquamente na parte media do corpo. Os vacuolos contracteis em numero de dois ou tres estão situados proximo á borda esquerda do corpo.

Habitat: encontrada raramente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

36. Dysteria brasiliensis nov., sp.
(Est. 25, Fig. 25)

Comprimento cerca de 150 micra, largura 60 micra mais ou menos.

Corpo achatado no sentido dorso-ventral, mais ou menos triangular, com a extremidade anterior mais larga. Borda *direita* quasi rectilinea.

Borda anterior ligeiramente convexa e obliqua. Borda direita convexa terminando na parte posterior em ponta recurvada para a esquerda. Protoplasma hialino com grandes vacuolos. Ciliação reduzida á uma faixa de cerca de um terço da largura do corpo e constituida por linhas de cilios longos e finos que correm parallelamente ás bordas esquerda e anterior do corpo. Proximo da extremidade posterior existe um pequeno appendice caudal em fórma de lamina triangular.

Bocca oval situada proximo ao ponto de união da borda esquerda e anterior prolongando-se por um pharinge relativamente pequeno indo até ao meio do corpo. O pharinge tem a fórma de um tubo conico com um estrangulamento no ponto de união do terço anterior com o terço medio. Na bocca existe uma membrana ondulante que ainda não foi assignalada nas outras especies de *Dysteria*.

Nucleo cylindrico com as extremidades arredondadas collocado proximo á borda esquerda e parallelamente á ella.

Vacuolos contracteis em numero de dois, situados proximos á borda esquerda, adiante e atraz do nucleo.

Habitat: encontrado raramente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

37. Ciclidium glaucoma O. F. MULLER, 1786.

Frequente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

38. Pleuronema crysalis EHRBG., 1838.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro e proximidades da Ilha Grande.

39. Lembus pusillus QUENN., 1869.

Frequente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

40. Lembus infusionum COLK.

Frequente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

41. Plagiopyla nasuta STEIN, 1860.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

Protocruzia nov. gen.

COHN em 1866 descreveu com o nome de *Colpoda pigerrima* COHN, um ciliado encontrado em agua do mar conservada em aquario.

HAMBURGER e BUDDENBROCK (Nordisches Plankton Ciliatapp. 64) incluem este ciliado no genero *Blepharostoma* SCHEW., 1893.

Durante nossas pesquisas tivemos occasião de verificar na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro um ciliado que apresenta as caracteristicas da fórma descripta por COHN. Pensamos que o referido ciliado não póde ser incluido no genero *Colpoda* nem no *Blepharostoma* e mesmo em nenhum outro genero conhecido o que motivou a creação de um novo genero que denominamos *Protocruzia* (1).

Diagnose: ciliado de corpo achatado com cilios finos e longos dispostos em linhas longitudinaes. Peristoma em fórma de sulco partindo da extremidade anterior até mais ou menos ao meio do corpo, apresentando em sua borda uma serie de cilios mais longos e espessos do que os que revestem o corpo.

(1) Genero dedicada á memoria de Oswaldo Cruz.

42. Protocruzia pegerrima (COHN, 1866. NOBIS, 1922.

Syn.: *Colpoda pigerrima* COHN, 1866.

Blepharostoma pigerrima (COHN, 1866) SCHW.
Est. 25, Fig. 33.)

Com os caracteres do genero.

Dimensões: Cerca de 20 micra de comprimento por 10 micra de largura.

Habitat: encontrado com relativa frequencia em agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro, conservada no laboratorio.

43. Blepharisma clarissima ANIGST.,

Encontrado em agua do mar nas immediações da Ilha Grande.

44. Spirostomum lanceolatum GRUBER, 1884.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

45. Condylostoma patens (O. F. M., 1786).

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

46. Stentor polymorphus (O. F. M., 1786.)

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

47. Strombidium tipicum RAY LANK., 1874.

Na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

48. Strombidium shlcatum CALP., et LACH., 1858-61.

Na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

Ordem: HYPOTRICHA STEIN.

49. Peristomus emmoe STEIN, 1862.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

50. Amphista crassa CL. et LACH., 1858.

Frequente na agua do mar conservada no laboratorio. Bahia do Rio de Janeiro.

51. Amphista diademata REES, 1884.

Frequente na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro, conservada no laboratorio.

52. Stichochaeta pediculiformis COHN, 1866.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

53. Actinotricha saltans COHN, 1866.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

54. Euplotes charen (O. F. M., 1786).

55. Euplotes harpa STEIN, 1859.

Estas duas especies são abundantes na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro e proliferam grandemente quando conservadas no laboratorio.

56. Diophrys appendiculatus (STEIN,

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

57. Uronychia transfuga (O. F. M., 1777).

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

58. Aspidisca lynceus (O. F. M., 1786.

Na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

Ordem: *Peritricha* STEIN.

59. Linophora auerbachi (COHN, 1866.)

Encontrado uma vez na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

60. Zoothamnium elegans D'UDEKEM, 1864.

Na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

Sub-classe: SUCTORIA CLAPARÉDE ET LACHMANN

61. Acineta tuberosa EHRB., 1838.

Raro na agua do mar da Bahia do Rio de Janeiro.

Explicação das estampas 23—25.

Fig. 1—*Paramoeba schaudinni* nov. sp. vista á fresco. Nucleo e paranucleo (Nebenkoerper) visiveis; grandes vacuolos no endoplasma. Dimensões do rhizopode: 15 micra por 12 micra.

Fig. 2—*Paramoeba schaudinni* collorida pelo methodo de HEIDENHAIN. Nucleo em repouso e paranucleo em divisão. Dimensões do protozoario: 22 micra por 10 micra. Nucleo 3,5 micra, caryosoma 2,5. Paranucleo 4 micra por 2 micra.

Fig. 3—Divisão do paranucleo de *Paramoeba schaudinni*. Dimensões: 17 micra por 12,5 micra. Nucleo com 4,5 micra; paranucleo: 3 micra.

Fig. 4—*Paramoeba schaudinni*, divisão nuclear, placa equatorial. Dimensões: 17 micra por 14.

Fig. 5—Divisão nuclear do rhizopode, fuso com duas placas polares. Paranucleo em divisão. Dimensão: 15 micra.

Fig. 6— Dois nucleos em repouso e dois paranucleos em divisão.

Fig. 7—Idem, idem mais afastados. Dimensões 15 micra.

Fig. 8—Um nucleo em repouso e dois paranucleos. Divisão precoce dos paranucleos. Dimensão: 10 micra.

Fig. 9—Pequenas fórmas de *P. schaudinni* com 6 a 7,5 micra de diametro. Em todos estes exemplares nota-se o nucleo em repouso e o paranucleo em divisão.

Fig. 10—Caryogamia? ou degeneração? de *Paramoeba schaudinni*

Fig. 11—*P. schaudinni* com quatro exemplares pequenos da mesma *Paramoeba* no interior. *Gemulação interna?* ou *canibalismo?* O exemplar grande mede 17,5 micra por 12 micra de diametro.

Fig. 12—*Cruzella marina* nov., gen., et sp. nov. Fórma vegetativa do flagellado; coloração pelo HEIDENHAIN.

Fig. 13—Divisão nuclear de *Cruzella marina*, colorida pelo HEIDENHAIN.

Fig. 14—*Cruzella marina*. Divisão nuclear. Telophase. Corpusculos basaes já divididos e ligados por centrodesmose. Cada corpusculo basal dá nascimento á um flagello.

Os desenhos das Figrs. 12, 13 e 14 foram feitos com oc. 12 e obj. de imer. 1,5.

Fig. 15—*Colponema globosum* nov., sp. desenhado á fresco com oc. 4 Leitz e obj. de imers. 1,5 de Zeiss.

Fig. 16—*Eutreptiella marina* CUNHA, 1913 desenhada á fresco com oc. 1 e obj. imer. 1,8 mm.

Fig. 17—*Marsupiogaster picta* nov., sp. desenhado á fresco.

Fig. 18—*Wissotzkia sp.* desenhada á fresco com oc. 4 e obj. de im. 1/12.

Fig. 19—*Carteria sp.* desenhada á fresco.

Fig. 20—*Carteria sp.* desenhada á fresco. Dimensões: 10 micra por 7.

Fig. 21—*Carteria sp.*, multiplicação dentro de kysto. Desenho á fresco. Dimensão do kysto: 14 micra por 10.

Fig. 22—*Exuviella sp.*, vista de face; desenho á fresco oc. 5 e obj. de imers. 1,8.

Fig. 23—*Exuviella sp.*, vista de perfil, desenho á fresco com oc. 5 e obj. de imer. 1,8.

Fig. 24—*Prorocentrum sp.*, desenhado á fresco.

Fig. 25—*Dysteria brasiliensis* nov. sp., desenhada á fresco com oc. 4 e obj. 4 mm.

Fig. 26—*Dysteria compressa* GOUR. et ROESER, 1888. desenhada á fresco com oc. 4 e obj. 1,5 mm.

Fig. 27—*Trochilia sigmoides* DUJ., 1841. Face ventral. Dimensões: 21 micra por 14., bocca 12 micra, appendice caudal com 4 micra. Desenho á fresco.

Fig. 28—*Trochilia sigmoides* DUJ., 1841. Face dorsal. Comprimento: 17 micra por 11.

Figrs. 29-32—*Trochilia sigmoides* DUJ., 1841. Preparados corados pelo HEIDENHAIN. As figrs. 31 e 32 estão em divisão.

Fig. 33 — *Protocruzia pigerrima* (COHN, 1866) FAR., C. et P., 1922. Desenho á fresco. Dimensões: 21 micra por 11.

BIBLIOGRAPHIA.

A.

1. ARAGÃO, H. G. 1909 Sobre a *Amoeba diplomitotica* n. sp. Mem. Inst. Osw. Cruz. t. 1 Fac. 1 pp. 33—42.

2. ARAGÃO, H. B. 1910 *Polytomella agilis* n. gen., nov. sp. Mem. Inst. Osw. Cruz t. II Fasc. 1 pp. 42—57.

3. ALEXEIEFF, A. 1910 Notes sur les Flagellés. *In* Archiv. Zool. exper. et ger. (5ª. S). t. VI pp. 491—527.

4. ALEXEIEFF, A. 1912 Sur la revision du genre *BODO* Ehrb., *In* Arch. f. Protistk, Bd. 26 pp. 413—19. Fig. 1.

5. ANDRÉ, E. 1914 Recherches sur la Faune pélagique du Léman et desciption de nouveaux genres d'Infus. *In* Revue Suisse de Zool. Vol. 22 Nº. 7 pp. 179—193.

6. ANDRÉ, E. 1915 Contribution à l'étude de la faune infusorienne du Lac Majeur et description de formes nouvelles. *In* Revue Suisse de Zool. Vol. 23 Nº. 4, pp. 101—8.

7. ANDRÉ, E. 1916 Contribution à l'étude de la faune infusorienne du Léman. *In* Rev. Suisse de Zool. Vol. 24, Nº. 10, pp. 621—634 pl. 5.

8. ANIGSTEIN, L. 1911 Ueber zwei neue marine Ciliaten, *In*Archiv. f. Protistenk Bd. 24, pp. 127—140. Taf. 10.

9. APSTEIN, C. 1915 Nomina conservanda. Protozoa. pp. 121—123. *In* Sitzungsberichte der Ges. naturforschender Freunde zu Berlin. Nº. 5.

B.

10. BELAR, K. 1915 Bau und Vermehrung von *Prowazekia josephi* n. sp. *In* Arch. f. Protistenk., Bd. 35. pp. 103—118. Taf. 9 (8 Tex. fig.)

11. BELAR, K. 1916 Protozoenstudien. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 36. pp. 13—51. Taf. 2—4.

12. BUDDENBROCK, W von. 1920 Beobachtungen u. einige neue oder wenig bekannte marine Infus. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 41. pp. 341—364.

13. BUSCH, W. 1921 Studien ueber Ciliaten des Nordatlantischen Ozeans u. Schwarzen Meers. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 42. pp. 364—379.

14. BUETSCHLI, O. 1887-89 PROTOZOA. *In* Bronn's Klassen u. Ord. des Thierreichs. III. Infusoria und System der Radiolarien.

15. BUETSCHLI, O. 1882-84 PROTOZOA *In* Bronn's Klassen u. Ord. des Thierreichs. I. Abt. Sarkodina und Sporozoa.

16. BUSCH, W. 1919-20 *Quasilagilis* ein neues Ciliatengenus aus dem Schwarzen Meer. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 40. pp. 221—229. Taf. 17—8.

C.

17. CALKINS, G. N. (\$) 1902 Marine Protozoa from Woods Hole. *In* Bull. of the United States Fish Com. Vol. XXI. pp. 413—468.

18. CHATTON, E. 1917 Les *Blastocystis* stades du cycle évolutif de flagellés intestin. *In* C. R, Soc. Biol. t. 80. pp. 555—560. 1 pl.

19. CIENKOWSKI, L. 1865 Beitraege zur Kenntniss der Menaden. *In* Archiv. f. Mikrok. Anat. Bd. 1. pp. 203—232.

20. CIENKOWSKI, L. 1870 Uber Palmellaceen u. Flagellaten. *In* Archiv. f. Mikr. Anat. Bd. 6 pp. 421—438.

21. CLAPAREDE, E. et LACHMANN. 1858-9 Etudes sur les Infusoires et les Rhizopodes. «Extrait des Mem. de l'Institut Genovis. t. V, VI e VII».

22. COHN, FERDINANDO. 1866 Neue Infusorien im Zoaquarium. *In* Zei sch. f. Wiss Zool. Bd. XVI pp. 253 Taf. XIV u. XV.

23. CORRENS, C. 1892 Uber eine neue braune susswasseralge *Naegeliella flagellifera* nov. gen., et nov. sp. *In* Ber-Deuts. Bot. Gesel. Bd. X pp. 629—636. Taf. XXXI.

24. CUNHA, A. M. da 1913 Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brasil. These de doutoramento.

25. CUNHA, A. M. da 1913 Sobre um novo genero de *Euglenoidea*. *In* Brasil-Medico. Anno. 27. N°. 21. pp. 203.

26. CUNHA, A. M da 1914 Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brasil. III. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. t. 6 N°. 3 pp. 169.

27. CUNHA, A. M. da 1915 *Tropidomonas rotans* nov. gen., sp, nov. *In* Brasil-Medico. Anno. 29 N°. 15. pp. 113.

28. CUNHA, A. M. da 1915 Sobre duas novas especies de ciliados. *In* Brasil-Medico. Anno. 29 N°. 17 pp. 129.

29. CUNHA, A. M. da 1915 *Spirorhynchus verrucosus* nov., gen., nov., sp. *In* Brasil-Medico. Anno. 29. N°. 19. pp. 145.

30. CUNHA, A. M. da 1916 Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brasil. IV. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. t. 8. N°. 1. pp. 66.

31. CUNHA, A. M. da e FARIA, J. G. de 1917 Estudos sobre o Microplancton da bahia do Rio de Janeiro e suas immediações. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. t. 9. N°. 1 pp. 68.

32. CUNHA, A. M. da 1917 O microplancton do Atlantico nas immediações de mar del Plata. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz t. 9. N°. 1 pp. 140.

Nota.—As indicações bibliographicas marcadas com o signal (\$) não existem na biblioteca do Instituto Oswaldo Cruz.

33. CUNHA, A. M. da e FONSECA, O. da 1918 O microplancton das costas meridionaes do Brasil. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz t. 10. Nº. 2 pp. 99.

34. CUNHA, A. M. da 1918 Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brasil. *In* Mem. do Instituto Oswaldo Cruz t. 10 Nº. 2. pp. 192.

D.

35. DANGEARD, P. A. 1889 Recherc. s. 1. *Cryptomonadinoe* et les *Euglenoe In* Le Botaniste. Vol. 1. pp. 1—38.

36. DANGEARD, P. A. 1894-95 Mém. s. 1. parasites du noyau et du protoplasma. *In* Le Botaniste. (4ª. Serie) pp. 199—248.

37. DANGEARD, P. A. 1910 Etudes sur le dévelopment et la structure des organismes sinferieures. *In* Le Botaniste (11ª S.) pp. 1—311.

38. DADAY, E. von. 1886 Ein kleiner Beitrag zur kenntniss der Infusorien-Fauna des Golfes von Neapel. *In*Mitt. aus der Zool. Stat. zu Neapel. Bd. VI. pp. 481.

39. DILL, O. 1895 Die Gattung *Clamydomonas* und ihre nachten Verwardten. *In* Jahrbuch. fur Wissensch. Botanik. Bd. 28. pp. 323—358. Taf. V.

40. DOFLEIN, F. 1916 Lehr. d. Protozk. (Vierte Auf.)

E.

41. EHRENBERG, D. C. G. 1838 Die infusionsthierchen als vorkommene Organismen.

42. ENTZ, G. 1884 Ueber Infusorien des Golfes von Neapel. *In* Mitt. Zool. Stat. zu Neapel. Bd. 5 pp. 289. Taf. 20—25.

F.

43. FAURÉ-FREMIET, E. 1914 Deux Infusoires planctoniques *Tontonia appendiculiformis* (nov., gen., sp. nov.,) et *Climacostomum diedrum* nov., sp. *In* Archiv. fur Protistenk Bd. 34. pp. 95—107.

44. FISCH, C. 1885 Untersuchungen uber einige Flagellaten und verwandte organismen. *In* Zeit. f. wiss. Zool. Bd. 42. pp. 47—125. Taf. I—IV.

45. FONSECA, O. da 1915 Estudos sobre os flagellados parasitos. These de doutoramento.

G.

46. GONDER, R. 1910 Ein Parasit von *Colpoda cucullus*. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 18. pp. 275—7.

47. GOURRET, P. et ROESER, P. 1886 Les Protozoaires du vieux-Port de Marseille. *In* Archiv. de Zool. exper. et Gen. (2ª. S) T. IV. pp. 443.

48. GOURRET, P. et ROESER, P. 1888 Contribution à l'étude des protozoaires de la Corse. *In* Archives de Biol. Vol. 18. pp. 139—204. pl. XIII-XV.

49. GRIESSMANN, KARL. 1914 Uber marine Flagellaten. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 32.

50. GRUBER, A. 1881 *Dimorpha mutans*. Eine Mischform von Flagellaten u. Heliezoon. *In* Zeitschr. f. Wiss Zool. Bd. 36. pp. 445—458. Taf. XXIX.

51. GRUBER, A. 1884 Die Protozoen des Hafens von Genua. *In* Nova Acta des Kal. Leep.-Carol. Deutschen Akademie der Naturforscher. Bd. XLVI. N°. 4. Taf. VII—XI.

H.

52. HAUSSMANN, L. A. 1921 Fresh water and marine Gymnostomian. *In* Trans. of the Amer. Micr. Soc. Vol. XL. N°. 3. pp. 118—143.

53. HARTMANN, M. u. SCHILLING, C. 1917 Die Path. Protoz.

54. HARTMANN, H. e CHAGAS, C. 1910 Estudos sobre flagellados. *In* Mem. do Inst. Oswaldo Cruz t. 2 Fasc. 1 pp. 64.

J.

55. JANICKI, C. 1912 Paramoebenstudien. (*P. pigmentifera* Grassi und *P. chaetognathi* Grassi). *In* Zeit. f. wiss. Zool. Bd. 103. pp. 449—518. Taf. VI—IX. u. 4. Tex. fig.

K.

56. KENT, W. S. 1881-2 A manual of the Infusoria. London.

57. KLEBS, G. 1893 Flagellatenstudien. *In* Zeit. f. wiss. Zool. Bd. XLV.

58. KELWITZ, R. 1911 Uber das Kammerplankton des Susswassers und der Meere. *In* Ber. Deut. Bot. Ges. Bd. 29. pp. 386—402.

59. KUHN, A. 1915 Uber Bau. Teil. u. Encyst. von *BODO EDAX* Klebs. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 35, pp. 212—255. Taf. 20.

L.

60. LANTZSCH, KURT. 1914 Studien uber das Nannoplankton des Zugersees u. seine Beziehung zum Zooplancton. *In* Zeitsch. f. Wiss. Zool. Bd. 108. pp. 631—692.

61. LAUTERBORN, R. 1896 Die pelagischen Protozoen u. Rotatorien Helgolands. *In* Wiss. Meers. Vol. I. pp. 207—213.

62. LAUTERBORN, R. 1896 Beitrage zur Suss. der Insel. Helgoland. *In* Wiss. Meers. Bd. I. pp. 215—221.

63. LOHMANN, H. 1908 Untersuchungen zur Feststellung des vellstandigen Gehaltes des Meeres Plankton. *In* Wiss. Meeres. Bd. 10 (Abt. Kiel) pp. 130—370. Taf. IX—XII.

64. LOHMANN, H. 1903 Neue Untersuchungen uber den Reichtun des Meeres zur Plankton etc. *In* Wiss. Meeres. (Abt. Kiel) Bd 7. pp. 1—86. Taf. I—IV.

65. LEMMERMANN, E. 1910 Flagellatae. *In* Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Bd. III. pp. 257.

66. LEMMERMANN, E. 1913 Notizen uber Flagellaten. *In* Archiv. Hydrobiol. u. Plank-ð tonkund. Bd. VIII. pp. 555—574.

M.

67. MACFIE, J. W. S. 1917 A flagellate frequenting the necks of bettles. *In* The Jour. of Trop. Med. a. Hyg. Vol. XX. Nº. 1. pp. 1—3. (*Prowazekia aquoe* nov., sp.)

68. MAUPAS, E. 1883 Contribution à l'étude morphol. et anat. d. Infus. ciliés. *In* Archiv. de Zool. exper. et gener. T. I. (2ª S.)

69. MOBIUS, K. 1888 Bruchstucke einer Infusorienfauna der Kieler Bucht. *In* Archiv. fur Naturges. XLIV Jahrg. Bd. 1. pp. 81. Taf. IV—X.

70. MOORE. 1893 Obser., upon Amoeba with special reference to the existence of am app. micronucleos in the organism. *In* Ann. a. Magaz. of Nat. Hist. vol, II. pp. 149—154. pl. XIII.

71. MEYER, H. 1897-8 Untersuchungen uber einige Flagellaten. *In* Rev. Suisse de Zool. t. V. pp. 43. Pl. 2 e 3.

N.

72. NAGLER, K. 1911 Studien uber Protozoen aus einem Almtumpel. II Parasitische Chytridiaceen in *Euglena sanguinea* *In* Archiv. f. Protistenk Bd. 29. pp. 262—268. Taf. 12.

P.

73. PARONA, Prof. C. 1881-83 Materiali per le studie della fauna della Sardegna. *In* Estratte dal Boll. Scientifice. Nº. 2. Agosto 1882.

74. PASCHER, A. 1911 Uber die Beziehungen der Cyptomonaden zu den Algen. *In* Ber. Deut., Bot. Ges. Bd. 29. pp. 193—203.

75. PASCHER, A. 1911 *Cryptophora* eine neue tentakeltragende Chrysomonade aus Franßbad. u. ihre Verwandten. *In* Ber. Deut., Bot. Ges. Bd., 29. pp. 112—125. Taf. VI.

76. PASCHER, A. 1911 Zwei braune Flagellaten. *In* Ber. Deut., Bot. Gesel. Bd. 29. pp. 190—192.

77. PASCHER, A. 1916 Uber eine neue Amobe *Dinamoeba varians* mit dinoflagellatenartigen Schwarmern. (II Teil) *In* Archiv f. Protistenk. Bd. 36. pp. 118—136. Taf. 10.

78. PASCHER, A. 1916 Studien uber die rhizopodiale Entwicklung der Flagellaten (I Teil) *In* Archiv. f. Protistenk. Bd. 36.pp. 81—117 Taf. 7—99.

79. PASCHER, A. 1917 Drei Anregungen fur die Darstellung der Protisteruntersuchungen, *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 37, pp. 198—203.

80. PASCHER, A. 1917 Undulierende Saumgeisseln bei einer grunen Flagellaten. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 37. pp. 191—197.

81. PASCHER, A. 1917 Fusionsplasmodien bei Flagellaten u. ihre Bedeutung fur die Abt. der Rhizop. von den Flagellaten. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 37. pp. 31—64. Taf. 3.

82. PASCHER, A. 1917 Rhizopodialnetze als Faugvorrichtung bei einer plasmodialen Chrysomonade (III). *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 37 pp. 15—30 2.

83. PASCHER, A. 1918 Flagellaten u. Rhizopoden in ihren gegenseitigen Beziehungen. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 38. pp. 1—88. (65 Texfig.)

84. PAVILLARD, J. 1916 Flagellés nouveaux, épiphytes des Diatomeés pélagiques. In C. R. Acad. Sc. t. 163. pp. 65—68.

85. PAVILLARD, J. 1917 Un Flagellé pélagique aberrant, le *Pelagorhynchus marinus*. *In* C. R. Acad. Sc. t. 154. pp. 238—241.

86. PÉNARD, E. 1914 Rhizopodes. *In* Mém. Soc. Sc. Naut. de Neuchtel. t. V. (II part.) pp. 669—674.

87. PRATJE, A. 1921 Die verwandtschaftlichen Bezichungen der Cystoflagellaten. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 42. pp. 422—438.

88. PUSCHKAROW B. M. 1913 Uber die Verbreitung der Susswasserprotozoen durch die Luft. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 28. pp. 323—362.

89. PROWAZEK, S. von 1903 Flagellatenstudien. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. II pp. 195—212.

90. PROWAZEK, S. von 1910 Contribuição para o conhecimento da fauna de protoz. do Brasil. *In* Mem. do Inst. Osw. Cruz. t. II F. II pp. 146—158.

R.

91. REINKE, J. 1910 Eine neue Alge des Planktons. In Wiss., Meers., Bd. 4. (Abt. Helgoland). pp. 1—4.

92. REINISCH, O. 1911 Eine neue Phaeocapsacee. *In* Ber., Deut., Bot., Gesel., Bd. 29. pp. 77—83. Taf V.

93. ROME, J. 1901 Faune Infus, des eaux stagnantes des environs de Genève.

S.

94. SCHAUDINN, F. 1896 Uber den Zeugungskreis von *Paramoeba eilhardi* nov., gen., sp. nov. *In* Fritz Schaudinns Arbeiten. pp. 115.

95. SCHEPOTIEFF, A. 1910 Amoebenstudien *(Nucleophaga* sp.) *In* Zool. Jahrb., (Abt. Anat.) Bd. 29. pp. 485—526. Taf. 39.

96. SEUDHEIM M. 1916 Uber *Actinophrys oculata* Stein. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 36. pp. 52—66. Taf. 5—6.

97. SCHOUTEDEN, H. 1906 Notes sur quelques Infus. aspirotriches. *In* Ann. de Biol. Lacustre. T. 1. pp. 114.

98. SCHOUTEDEN, H. 1906 Les Infus. Aspirotriches d'eau douce. *In* Ann. de Biol., Lacustre. t. 1. pp. 383.

99. SCHOUTEDEN, H. 1907 Notes sur quelques Flagellés. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd., 9. pp. 108—136.

100. SCHEWIAKOFF, B. T. 1896 Organisatzia i Sistematika Infusoria Aspirotricha (Holotricha Autorum) *In* Mem. de l'Acad. Imper. des Sciens. de S. Petersbourg. Vol. IV. N°. 1.

101. SCHERFFEL, A. 1900 *Phaeocystis globosa* nov., sp. nebst einige Betrachtungen uber die Phylogenie niederer, insbesondere brauner Organismen. *In* Wiss. Meers., (Abt. Helgoland) Bd. 4. pp. 1—29. Taf. 1.

102. SCHERFFEL, A. 1911 Beitrag z. kenntnis der Chrysomonadineen. *In* Archiv. fur Protistenkunde. Bd. 22. pp. 299—344. Taf. 116.

103. SMITH, I. 1914 A preliminary Report on the Infusoria of Kansas. *In* The Kansas. Univ. Sc. Bull. Vol. IX. N°. 13 pp. 147—174.

104. SCHAULER, J. 1910 Uber die Ernahrungsbedingungen einiger Flagellaten des Meerwasserrs. (*Euglena baltica* nov., sp.) *In* Wiss., Meers. (Abt. Kiel) Bd. 11. pp. 347—364.

105. STILES, W. 1902 The type epesies of certain genera of parasitic Flagellates, particulary Grassis genera of 1879 and 1881. *In* Zool. Anz. Bd. XXV. pp. 689—695.

106. SCHILLER, J. 1918 Uber neue *Prorocentrum* und *Exuviella* Arten aus der Adriatic. *In* Archiv .fur Protistenkunde. Bd. 38. pp. 250—262.

107. SCHMIDT, W. J. 1919-20 *Sphaerobactrum warduoe* ein Kettenbildender Ciliat. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 40. pp. 230—252. Taf. 19.

T.

108. TAGLIANI, G. 1913 Studi critice-sistematice sugl'Infusori. *In* Annuarie del Museo Zool. della. Univ. Napoli. Vol. 4. N°. 6. pp. 1—26.

109. THOMPSON, D. 1916 Protozoological researches including investig. etc. *In* and THOMPSON, G. Journ. of Roy. Arm. Med. Corp. Vol. XXVII. N°. 1. pp. 1—29. Pl. I—IV.

110. TRÉGOUBOFF, G. 1915 Sur quelques protistes parasites recontrés à Vill-franche-sur mer. *In* Archiv. de Zool. exper. et genel. t. 55. N°. 3 pp. 35—44. Notes et Revue.

111. TSCHENZOFF, B. 1916 Die Kernteilung bei *Euglena viridis* Ehrg. *In* Archiv. f. Protistenk., Bd. 36. pp. 137—173. Taf. 11—12.

W.

112. WOODCOCK, 1913 Observations on the Life Cycle of e new flagellate, H. M. and LAPAGE, G. *Helkesimastix faecicola* nov., gen., sp. nov., Togethher with Remarks on the Quention of syngamy in the Trypanosomes. *In* Proc. Rey. Soc. Lomdon. Vol. 88. Ser. Bd. pp. 353—370. Pl. 13—14.

113. WAILES, G. H. 1912 Freshwater Rhizopoda and Heliozoa from the Stat. of New. York, New Jersey and Georgia. *In* The Jour. of the Linn. Soc. Vol. 32 N°. 214 pp. 121—161. Pl. 12.

114. WAILES, G. H. 1913 Freshwater Rhizopoda from North and South America. *In* The Jour. of The Linn. Soc. Vol. XXXII. N°. 216 pp. 201—218.

A Reacção de Wassermann na Leishmaniose

pelo

Dr. Antonio Eugenio de Arêa Leão.

A leishmaniose americana passa como uma das molestias onde, com frequencia, se encontram reacções de WASSERMANN positivas. Isso parece, entretanto, sêr o fructo de uma observação errada, onde a syphilis existindo provavelmente nos individuos examinados, passou despercebida ou não foi bem procurada. O mesmo tambem, talvez se dê com muitas outras molestias, impaludismo, sarampo, escarlatina, etc., onde tambem têm sido encontradas reacções de WASSERMANN positivas. Destas ultimas trataremos em trabalhos ulteriores, mas de presente podemos affirmar, embora ainda seja pequena a nossa estatistica, que ainda não encontramos reacções de WASSERMANN positivas em individuos com escarlatina, sarampo ou impaludismo e quando aquella se tem mostrado positiva os pacientes são portadores de syphilis. Pretendemos mais tarde com provas e argumentos tratar da questão.

A syphilis é as vezes de um diagnostico difficil, e o proprio doente tudo nega quando interrogado. Mas diante de uma reacção positiva, quando esta foi escrupulosamente feita, deve-se procurar a syphilis por todos os outros meios possiveis.

A reacção de WASSERMANN embora não seja uma reacção especifica, é na syphilis e só nella que se a observa com uma frequencia enorme. São alterações que a molestia imprime ao organismo contaminado e reveladas pela reacção; o tratamento especifico bem administrado fa-la, mais cedo ou mais tarde, desapparecer. Por tudo isso, embora lhe não conheçamos a causa intima, guarda a reacção de WASSERMANN uma certa especificidade para a syphilis.

Quantos casos, onde clinicamente não era possivel descobrir a syphilis, a reacção de WASSERMANN vem esclarecer o diagnostico e adoptado o tratamento especifico o doente melhora consideravelmente? Sendo uma reacção muito complexa, onde entram numerosos elementos, necessario se faz que todos elles sejam perfeitamente dosados: assim se poderá confiar nos seus resultados.

A differença encontrada entre autores é certamente devido a technica diferente usada por cada um Praticada a

reacção nas mesmas condições, com a mesma technica, poderá variar o operador, mas os resultados serão sempre os mesmos.

O emprego de mais de um antigeno na reacção, no minimo tres, perfeitamente dosados e conhecidos quanto ao seu poder fixador, é de uma necessidade imperiosa; não se deve nunca praticar a reacção de WASSERMANN com um só antigeno, porque isso poderá accarretar grandes erros. Os antigenos cholesterinisados deverão ser usados com prudencia e a cholesterinisação, deve ser feita mediante dosagem previa com sôros conhecidos e comparativamente com antigenos já experimentados; assim se chegará a um optimo de cholesterina a se juntar a uma quantidade determinada de antigeno. A dosagem do antigeno é demorada e só depois de bem verificado, com numerosos sôros conhecidos e comparado a antigenos já experimentados, deverá ser empregado correntemente.

Examinámos o sôro sanguineo de 60 doentes de Leishmaniose americana, todos elles internados na 19ª. Enfermaria da Santa Casa de Misericordia do Rio de Janeiro, a cargo do Professor Dr. FERNANDO TERRA, a quem agradecemos todas as facilidades que nos concedeu para a realisação deste trabalho.

Em todos os doentes procuravamos cuidadosamente a syphilis, para assim podermos tirar conclusões acertadas.

O diagnostico clinico da leishmaniose presta-se a confusão com as lesões similhantes occasionadas pela syphilis, mormente na fórma mucosa daquella molestia; embora aqui se tenha o facto capital da syphilis atacar as partes osseas o que se não dá com a leishmaniose, limitando-se esta ultima doença a destruição dos tecidos e cartilagens, mas nunca os ossos.

A historia clinica de cada caso tem muita importancia para affastar ou descobrir concumitantemente a syphilis. O exame sorologico presta, acreditamos, valiosos esclarecimentos, pois dos 60 casos por nós observados, nem um só de leishmaniose pura, isento de syphilis desviou o complemento em presença dos antigenos usados na reacção de WASSERMANN.

Passamos agora a descrever a technica que usamos na pratica destas reacções.

Antigenos:—Os antigenos usados na reacção foram em numero de seis: figado de féto heredo-syphilitico (extracto alcoolico); coração humano (extracto alcoolico cholesterinisado); coração de boi (extracto alcoolico cholesterinisado); antigenos de lipoides insoluveis na acetona, preparado segundo a technica de NOGUCHI; antigeno de BORDET e RUELENS (usado no Instituto Pasteur de Bruxellas, sendo uma modificação do processo de NOGUCHI para extrahir os lipoides insoluveis na acetona); antigena de LESSER (extracto ethereo de coração de boi). Os lipoides insoluveis na acetona, quer pelo processo de NOGUCHI ou o de BORDET e RUELENS foram extrahidos do coração de boi.

Todos estes antigenos eram perfeitamente conhecidos, já tendo sido experimentados com numerosos sôros de individuos seguramente syphiliticos e sôros normaes. Apezar disso e para mais segurança do material usado, eram todos elles dosados novamente, no mesmo dia da reacção, quanto ao seu poder impediente e experimentados com sôros positivos e negativos conhecidos. No primeiro caso, isto é, verificando o seu poder impediente, empregavamos a dose dupla e tripla da que ia ser usada na reacção, com uma dose de complemento fixa e globulos de carneiro sensibilisados com duas a tres unidades hemolyticas.

Complemento:— Usamos o sôro de

cobaya, sangrada no mesmo dia da reacção; e para termos um complemento mais homogeneo retiravamos o sôro de oito á dez cobayas. O complemento era dosado em presença de uma dose fixa de hemolysinas e da dose de antigeno a ser usada na reacção.

Systema hemolytico:—Sôro de coelho para os globulos vermelhos de carneiro, verificando-se sempre o poder do sôro para os globulos usados no dia.

Ainda procediamos a verificação de todos os elmentos, complemento, hemolysinas, antigenos e agua physiologica, tomados isoladamente e postos em presença dos globulos de carneiro; para ver se por si só occasionavam a hemolyse.

Feitas todas estas provas, complementares e indispensaveis, para nos assegurarmos do bom funccionamento de todos os elementos empregados na reacção, procediamos o exame dos sôros dos doentes de leishmaniose. Estes sôros eram colhidos e no mesmo dia separados do coagulo e inactivados em banho-maria á 56ºC., durante meia hora, guardados depois no gêlo e no dia seguinte era praticada a reacção.

A quantidade de sôro usada na reacção era de 0,2 e distribuida em sete tubos, em seguida juntavam-se 0,2 de cada antigeno, figurando assim cada tubo com um antigeno, exceptuando-se o ultimo (setimo tubo), que não recebia antigeno e ficava como testemunho do sôro. Juntavamos em seguida a quantidade de complemento determinada pelas dosagens previas, e completavamos em todos os tubos o volume de 2 cc., com agua physiologica á 8,5 p. 1000.

Feito isso os tubos eram levados ao banho-maria á 37ºC., e ahi soffriam a primeira incubação pelo espaço de 1 hora. No fim deste tempo juntavamos os globulos de carneiro (emulsão á 5 % em agua physiologica) sensibilisados com duas á tres unidades hemolyticas. A leitura da reacção era feita no fim de 1 hora quando todos os testemunhos dos sôros examinados estavam completamente hemolysados.

Com esta technica nunca nos foi dado encontrar reacções de WASSERMANN positivas no sôro sanguineo de doentes que soffriam só de leishmaniose, tendo o exame clinico cuidadoso affastado a syphilis.

Em todas as nossas observações onde a reacção de WASSERMANN foi positiva a syphilis era clinicamente encontrada e o tratamente especifico vinha comprovar a nossa observação. Nestes casos a administração unica do tartaro emetico, pelo processo de GASPAR VIANNA não era sufficiente para curar completamente o paciente e administrada a medicação especifica da syphilis ella vinha apressar e completar o tratamento. Era pois a prova therapeutica confirmando a clinica e o resultado da reacção de WASSERMANN. O tartaro emetico embora seja tido como cicatrisante energico, não tem acção curativa nas lesões syphiliticas, nem tambem a medicação especifica da syphilis, o mercurio ou os arsenicaes, curam a leishmaniose. Não faltam na litteratura medica observações de casos de leishmaniose curados ou melhorados com o 914 e mesmo nos tratados de pathologia se encontra commumente acconselhado no tratamento desta molestia o 914. Na leishmaniose americana nunca vimos um caso curado ou melhorado com este medicamento; só delle aproveitavam e com vantagem os doentes que soffriam tambem de syphilis.

Dos doentes por nós observados um um teve exito letal, o da observação nº. 27; como tem interesse no caso essa observação pois trata-se de um doente com leishmaniose tegumentar mixta e syphilis terciaria, tendo sido a reacção de WASSERMANN fortemente positiva, com os seis antigenos usados, havendo com todos elles ausencia de hemolyse completa, vamos descrever o caso clinico e o resultado da autopsia feita na secção

de Anatomia Pathologica do Instituto Oswaldo Cruz pelo assistente Dr. CEZAR GUERREIRO, a quem somos muito grato por todos os esclarecimentos que nos deu.

Obs. XXVII.—C. F.—Individuo de côr preta, apresentando uma grande ulcera no nariz, que se estendia de ambos os lados, destruindo as azas do mesmo; septo cartilaginoso destruido e a porção ossea do nariz compromettida. Do nariz a ulceração se estendia ao labio superior, que bastante edemaciado, apresentava uma ulceração circular de cerca de quatro centimetro de diametro, arredondada e de bordos salientes: Na cavidade buccal notava-se ulceração das amygdalas; a epiglotte em parte destruida; cordas vocaes totalmente ulceradas e destruidas; o doente era quasi aphonico, mal se percebendo as palavras que articulava. O pharynge era coberto por uma ulceração grande, de bordos irregulares, fundo anfractuoso e purulento. Esophago compromettido nas suas visinhanças com o pharynge. Nos membros superiores e inferiores encontravam-se ulcerações de tamanho variavel desde tres á dez centimetros de diametro. Eram ulcerações geralmente arredondadas e cobertas de uma crosta amarella escura e bem adherente a ferida. Retirada a crosta via-se o fundo da ulcera, anfractuoso e coberto de uma seccreção purulenta. As ulcerações sangravam com facilidade, logo retirada a crosta e o doente nellas accusava fortes dores. Ganglios inguino-crurais e epitrochleanos presentes e augmentados de volume.

Na glande se encontrava uma cicatriz esbranquiçada, bem visivel vestigio de um cancro, que o doente accusava na sua historia.

Os esfregaços feitos com fragmentos das ulceras e corados pelo GIEMSA, revelaram a presença de numerosas leishmanias, ora isoladas no campo microscopico, ou em grande numero parasitando os grandes mononucleares e amontuadas no plasma destes globulos, mais deixando perfeitamente visiveis a sua massa nuclear intensamente corada e o seu plasma com contornos bem nitidos.

Além das leishmanias notava-se tambem no campo microscopico a symbiose fuso-espirillar, espirillos e bacillos fusiformes, em abundancia se distribuiam no campo microscopico. A presença da symbiose fuso-espirillar em lesões outras, que não a angina e a ulcera tropical, nós já a temos visto muitas vezes, ora em epitheliomas ulcerados, blastomycose, cancros syphiliticos ou simples (cancro molle), etc.

Trata-se provavelmente de um factor de contaminação, que agrava por demais a ulceração, dando-lhe logo um caracter phagedenico, e auxilia-se muito o tratamento affastando-se esta causa com a applicação de antisepticos locaes.

Praticámos no doente uma biopsia da ulceração do nariz, e o pequeno fragmento retirado foi fixado no sublimado-alcool de SCHAUDINN e seguida a technica commum da inclusão. Os cortes corados pelo GIEMSA, hematoxylina-eosina, e pelo methodo de VAN GIESON, mostravam numerosas leishmanias, ora isoladas entre as cellulas do tecido e os elementos do sangue emigrados, ou, o que era mais commum, parasitando os grandes mononucleares.

O doente veio a fallecer ainda quando em tratamento, e no inicio deste. Victimou-o um processo de tuberculose miliar aguda, que o protocollo de autopsia, mais adiante transcripto, nos diz. Aliáz seja dito, de passagem embora, a leishmaniose na sua fórma mucosa, a mais grave e mais rebelde ao tratamento dando com facilidade reincidencias frequentes, destruindo as cartilagens do nariz e occasionando a obstruicção das fossas nasaes, resultando assim um prejuizo para a respiração normal, que passa então a se fazer pela bocca, attacando os orgãos todos localisados no fundo da bocca (amygdalas etc.), e que consti-

tuem a defeza do organismo, cria uma situação de inferioridade para este, facilitando desta sorte a invasão facil por outras molestias, cujos germens causadores, vivem como saprophytas communmente na bocca, taes o da tuberculose e da pneumonia, etc.

A leishmaniose não é uma molestia que produza a morte por si só; quasi sempre são casos que passam a chronicidade, e quando têm aquelle desfeixo, é muitas vezes a tuberculose que encontrando terreno propicio ahi se desenvolve insidiosamente, occasionando a morte do paciente.

Autopsia:—Diagnostico: Tuberculosis miliaris acuta pulmonum; hepatis et lienis. Lymphadenites tuberculosa mesaraica. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Pharyngitis ulcerativa. Laryngitis ulcerativa. Oesophagitis ulcerativa. Tracheitis ulcerativa. Syphilis. Cicatrix penis. Perisplenitis chronica. Pleuritis adhesiva subacuta. Hypertrophia ventriculi utriusque. Aortitis. Clades soepti nasis. Ulcus alae sinistrae nasis (Leishmaniosis). Granuloma nasis (Leishmaniosis), Ulcus labii superioris (Leishmaniosis). Atrophia renum. Ankylostomyasis.

Cadaver do sexo masculino bastante emmagrecido. Tegumentos cutaneos de côr negra. Nos membros inferiores nenhum edema. Distribuição dos pellos regular. Cicatriz pouco profunda do sulco balano-prepucial. Gânglios inguino-crurais augmentados de volume, correndo sob o dêdo pela palpação.

Abdomen pouco tenso. Espaços intercostaes deprimidos. Labio superior apresentando-se com uma perda de substancia, attingindo todo o labio perda esta de pouca profundidade, com fundo granuloso. Nariz tambem apresentando-se destruido em sua parte cartilaginosa de separação, estando a parte ossea tambem em parte destruida. A aza do nariz do lado esquerdo apresentando formações vegetantes, mais ou menos do volume de uma avelã. Aza direita do nariz com uma ulceração que a cobre por completo. Ambas as fossas nasaes extremamente estreitas. Corneas transparentes, pupillas igualmente dilatadas. Ao córte camada gordurosa bastante reduzida medindo na parede abdominal 2 mm., camada muscular 7 mm. Musculos de côr parda, poucos humidos. Nas partes profundas do abdomen nenhum liquido. Figado excedendo o appendice xyphoide 6 cm., completamente coberto pelo rebordo costal na linha mammillar. Posição do diaphragma 6ª costella de ambos os lados. Pericardio descoberto numa extensão de 9 cm. No sacco do pericardio cerca de 30 cc. de liquido seroso amarellado. Mucosa da base da lingua ligeiramente envermelhecida, com as granulações bem visiveis. No pharynge existe uma ulceração que o cobre por completo. Epiglotte com o bordo destruido em parte, apresentando-se a plica arythenoepiglottica com a mucosa granulosa, espessada, estando a plica muito diminuida de largura. Destruição completa das cordas vocaes, existindo ahi uma ulceração de fundo muito granuloso. Amygdalas tambem ulceradas, com quasi perda total do seu tecido. Esophago na sua porção inicial com a mucosa completamente destruida. O terço superior da trachea com os vasos turgidos, apresentando-se a parte mais superior tumida e com a mucosa destruida. Pulmão esquerdo adherindo a pleura costal em toda a extensão, por bridas fibrosas pouco resistentes. Pulmão direito livre, cavidade pleural vasia. Pulmão esquerdo augmentado de volume, com a consistencia tambem muito augmentada. Ao córte quantidade de ar quasi totalmente abolida; o orgão apresentando-se semeado de nodulos esbranquiçados, maiores que a cabeça de um alfinete, disseminados em todo o tecido e a parte intercalar

desses nodulos com côr vermelha e consistencia gelatinosa. Pleura coberta por espessamento fibroso com aspecto gelatinoso. Ganglios lymphaticos peri-bronchicos augmentados de volume, de tecido de côr escura. Bordos inferiores do pulmão com a quantidade de ar um pouco conservada e crepitação bastante diminuida. Pulmão direito pleura lisa, percebendo-se por sob ella, no tecido pulmonar, diversos nodulos esbranquiçados, de tamanho variavel, apresentando-se os tres lobos adherentes entre si por bridas fibrosas. Ao córte todo tecido pulmonar apresenta nodulos similhantes aos do lado esquerdo, sendo aqui mais espaçados, existindo conservação de uma relativa quantidade de ar no parenchyma.

O tecido intercalar tambem com aspecto e consistencia gelatinosa. Coração não augmentado de volume, relativamente a estatura do cadaver. Folha pleural do pericardio lisa. Gordura sub-epicardial bastante reduzida. Ventriculo direito endocardio liso; espessura do ventriculo 3 mm., musculatura de côr pardacenta. Auricula direita endocardio liso; valvulas da mitral sem espessamento.

Baço fortemente adherente ao diaphragma e aos orgãos circum-visinhos por bridas fibrosas; medindo sobre a convexidade 14 + 10 + 4. Ao córte polpa esplenica de côr escura, não se percebendo o apparelho follicular. Apparelho de sustentação bastante visivel, percebendo-se, semeados na polpa, nodulos esbranquiçados maiores que a cabeça de um alfinete, perfeitamente limitados no tecido. Figado com adherencias fibrosas fortes ao diaphragma; o orgão apresentando-se com diversas chantraduras verticaes. Ao córte desenho lobular apagado, o orgão com a quantidade de sangue conservada, existindo em pontos isolados, diversos nodulos esbranquiçados, pouco mais ou menos do tamanho da cabeça de um alfinete, perfeitamente limitados no tecido.

Vesicula biliar de paredes delgadas com alguns cc. de bile ligeiramente esverdiada e fluida. Capsulas suprarenaes de ambos os lados apresentando-se com camada medullar bastante escura e uns pontos esbranquiçados, mal limitados nessa camada. Ambos os rins um pouco reduzidos de volume; capsula fibrosa destacando-se com certa facilidade. Ao córte camada córtical pouco reduzida, não havendo separação nitida das duas camadas. Contorno das pyramides um pouco injectado. Bacinete estreito; urethér permeavel. Bexiga contrahida, com alguns cc. de urina turva. Prostata pequena de coloração esbranquiçada. Vesiculas seminaes de paredes delgadas, dando, pela expressão, sahida a um liquido turvo, mucoso. Testiculos de ambos os lados não augmentados de volume, com tecido de côr pardacenta; canaliculos pouco isolaveis. Aorta abdominal com a intima lisa e brilhante. Ganglios mesentericos e mesocolicos augmentados de volume, apresentando-se alguns com tecido em franca caseificação. Pela abertura do intestino verifica-se que toda mucosa acha-se diffusamente envermelhecida, existindo alguns exemplares de ankylostomos, e na altura do jejuno uma perda de substancia de 1cm. de largura sobre 4cm. de extensão, com bordos salientes e fundo anfractuoso No illeo tambem existem duas perdas de substancia, proximas uma da outra, de fórma arredondada, de cerca de 1cm. de diametro cada uma, de bordos salientes e fundo anfractuoso. Estomago com a mucosa diffusamente envermelhecida sem perda de substancia. Calote craniana assymetrica, de paredes regularmente espessas. Dura-matter igualmente tensa de ambos os lados. Meninges, tanto na base como na convexidade, apresentando-se ligeiramente leitosa, porém sem granulações. Pelos córtes frontaes ou longitudinaes nada de anormal no cerebro, cerebello e protuberancia.

O exame microscopico dos orgãos e das ulcerações encontradas no intestino, revelavam lesões da syphilis e tuberculose.

Observações

Obs. I.—J. M.—Solteiro, 58 annos, morador á rua da Republica, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. II.—C. C. S.—Brasileiro, branco, 42 annos, solteiro, residente em S. João Marcos, Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. III.—J. P. S.—Brasileiro, branco, lavrador, 44 annos, casado, residente em Itaperuna, Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. IV.—J. S. J.—Brasileiro, pardo, 52 annos, solteiro, residente em Itaocára, Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. V.—C. P.—Grego, branco trabalhador, 43 annos, casado, sem residencia, Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. VI.—O. A. S.—Brasileiro, branco, 34 annos, solteiro, residente em Estação do Livramento, Estado de Minas Geraes. Leishmaniose cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

VII.—A. M.—Portuguez, branco, 60 annos, casado, pedreiro, residente em Campo Grande. Leishmaniose tegumentar mixta Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. VIII.—A. M.—Brasileiro, preto, solteiro, 26 annos, pedreiro, residente á rua Conselheiro Octaviano, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. IX.—O. A. S.—Brasileiro, branco, 34 annos, solteiro, lavrador, residente em Estação do Livramento, Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. X.—M. B. O.—Brasileiro, branco, 60 annos, lavrador, solteiro, residente em Lençóes do Rio Verde, Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar cutanea; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XI.—M. A. L.—Brasileiro, branco, 32 annos, casado, lavrador, residente á rua Paysandú, 18, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XII.—J. F. A.—Brasileiro, pardo, 35 annos, casado, lavrador, residente em Santa Isabel. Leishmanioose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XIII.—A. M.—Turco, branco, 35 annos, solteiro, tendeiro, residente á rua Buenos-Ayres, 348, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XIV.—A. F.—Brasileiro, branco, 19 annos, casado, sapateiro, residente á Rua Tavares, 276, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negatipa.*

Obs. XV.—A. B. O.—Brasileiro, branco, 30 annos, solteiro, sem residencia. Leishmaniose tegumentar mucosa; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XVI.—L. L.—Portuguez, branco, 42 annos, casado, trabalhador residente em Campinas, Estado de S. Paulo. Leishmaniose tegumentar cutanea; syphilis. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XVII.—Brasileiro, preto, 45 annos, solteiro, trabalhador, residente em Triagem, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XVIII.—A. M. G.—Portuguez, branco, 63 annos, solteiro, trabalhador, residente á rua Theophilo Ottoni, Districto Federal. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XIX.—A. R. L.—Brasileiro, par-

do, 22 annos, solteiro, lavrador, residente em Estação Lagão, Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XX.—M. A. L.—Brasileiro, branco, 32 annos, casado, residente em Therezina, Estado do Piauhy. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Ob. XXI.—O. S. A.—Brasileiro, branco, 35 annos, casado, residente em S. Fidelis, Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXII.—M. S.—Brasileiro, preto, 35 annos, solteiro, residente em Itaborahy. Leishmaniose mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXIII.—C. J. S.—Brasileiro, pardo, 56 annos, solteiro, residente em Saquarema, Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XXIV.—A. F.—Brasileiro, branco, 22 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXV.—J. F. A.—Brasileiro, branco, 32 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXVI.—A. M. G.—Portuguez, branco, 60 annos, solteiro, trabalhador, residente em Baurú, Estado de S. Paulo. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXVII.—C. F.—Brasileiro, preto, 50 annos, solteiro, trabalhador, residente no Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria; tuberculose miliar aguda. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.* ,

Obs. XXVIII.—J. C.—Brasileiro, preto, 38 annos, solteiro lavrador, residente no Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXIX.—J. F. S.—Brasileiro branco, 20 annos, solteiro, serrador, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Neagtiva.*

Obs. XXX.—J. S.—Turco, branco, 38 annos, casado, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXI.—J. G. S.— Brasileiro, preto, 25 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar cutanea, Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXII.—C. J.—Brasileiro, branco, 27 annos, solteiro, residente no Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXIII.—M. P. — Brasileiro, branco, 32 annos, casado, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXIV.—M. L.—Brasileiro, preto, 24 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXV.—F. I.—Brasileiro, branco, 35 annos, solteiro, residente no Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXVI. — J. C. — Brasileiro, branco, 39 annos, solteiro, residente no Estado de S. Paulo. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XXXVII.—A. C. M.—Portuguez, branco, 45 annos, casado, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XXXVIII. — A. F. F. — Brasileiro, branco, 24 annos, solteiro, residen-

te no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XXXIX.—A. N. O.—Portuguez, branco, 32 annos, solteiro, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XL.—B. R.—Brasileiro, branco, 19 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis hereditaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Ob. XLI.—C. J. G.—Italiano, branco, 27 annos, casado, residente no Estado de S. Paulo. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XLII.—J. Z.—Italiano, branco, 34 annos, casado, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XLIII.—J. M.—Brasileiro, preto, 28 annos, solteiro, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XLIV.—G. N. O.—Brasileiro, branco, 48 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XLV.—A. C.—Portuguez, branco, 50 annos, solteiro, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XLVI.—A. J. C. — Portuguez, branco, 42 annos, solteiro, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XLVII.—M. G. G.—Brasileiro, preto, 29 annos, solteiro, residente no Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. XLVIII.—S. P.—Brasileiro, branco, 36 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. XLIX.—G. N. O.—Brasileiro, branco, 50 annos, casado, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. L.—P. A.—Portuguez, branco, 26 annos, solteiro, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. LI.—A. G.—Brasileiro, branco, 34 annos, solteiro, residente no Districto Federal. Leishmaniose tegumentar mixta. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. LII.—M. F. P.—Portuguez, 40 annos, solteiro, residente no Estado do Rio de Janeiro. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. LIII.—P. A. C.—Brasileiro, preto, 36 annos, casado, residente no Estado da Parahyba. Leishmaniose. tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. LIV.—A. P. M.—Portuguez, branco, 40 annos, solteiro, residente no Estado de S. Paulo. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacde WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. LV.—J. G.—Brasileiro, preto, 36 annos, solteiro, residente no Estado do Espirito Santo. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. LVI.—M. N.—Brasileiro, preto, 24 annos, solteiro, residente no Estado do Paraná. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. LVII.—A. W. M.—Americano, branco, 38 annos, solteiro, sem residencia. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Obs. LVIII.—F. S. T.—Brasileiro, branco casado, residente no Estado da Bahia. Leishmaniose tegumentar cutanea. Syphilis. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. LIX.—P. A. O.—Brasileiro, preto, 34 annos, solteiro, residente no Estado de Matto Grosso. Leishmaniose tegumentar mixta; syphilis terciaria. Reacção de WASSERMANN: *Positiva.*

Obs. LX.—M. E. F.—Brasileiro, preto, 31 annos, casado, residente no Estado de Minas Geraes. Leishmaniose tegumentar cutanea. Reacção de WASSERMANN: *Negativa.*

Conclusões.

O sôro sanguineo de doentes de leishmaniose americana, sob qualquer das suas fórmas clinicas, cutanea, mucosa ou mixta, não desvia o complemento em presença dos antigenos usualmente empregados na reacção de WASSERMANN.

Nos casos onde se encontram reacções de WASSERMANN positivas no sôro sanguineo de doentes daquella molestia, existe a syphilis comcumitantemente.

Contribuições para o conhecimento da fauna helmintolojica brasileira. XVII

Gorgoderidae brasileiras

por

LAURO TRAVASSOS.

(Com as estampas 26—30)

Em trabalho que apresentamos a Sociedade Brasileira de Sciencias, em Junho de 1920, passamos em revista as especies brasileiras da familia *Gorgoderidae*.

Este trabalho, porém, não poude ser ilustrado e só em Janeiro de 1922 foi publicado no Brasil-Medico.

Posteriormente a apresentação do referido trabalho obtivemos mais material e recebemos por gentileza do Dr. v. CLEAVE o trabalho de LINTON no qual este autor estabelece o genero *Xystretum*. Assim o trabalho que apresentamos agora é o anterior mais desenvolvido e completado além de bem ilustrado.

A familia *Gorgoderidae* LOOSS, 1901, se caraterisa principalmente pelos vitelinos quasi sempre reunidos em duas massas glandulares geralmente arredondadas, lobadas ou ramificadas e mais raramente em acnes; geralmente intra cecal, raramente cecal ou extra cecal. Os testiculos são em geral intra-cecais, podendo ser cecais ou extra-cecais, podem ser constituidos por duas massas glandulares redondas ou ramificadas ou por um grande numero de glandulas dispostas em cachos ou em série. O ovario redondo ou lobado é sempre pré-testicular e pos-acetabular. A bolsa do cirrus ou não existe ou é rudimentar havendo raramente um cirrus protatil.

O póro genital é mediano, pré-acetabular, bifurcal ou pós-bifurcal.

Os cecuns são geralmente largos, longos ou curtos; o farinje é ausente ou rudimentar. O aparelho excretor conhecido em poucas especies é geralmente constituido por uma grande vesicula mais ou menos irregular, onde vém se abrir as lacunas coletoras.

Habitam a vesicula biliar ou urinaria.

Esta familia é constituida por 3 sub-familias: *Gorgoderinae*, *Anaporrhutinae* e *Callodistominae*, destas aproximamos uma quarta *Isoparorchinae*, em nosso primeiro trabalho; verificamos mais tarde que esta ultima sub-familia deve fazer parte dos *Hemiuridae*.

Este grupo se aproxima de algum módo dos *Zoogonidae*, dos quais tem o aspeto geral e mesmo se aproxima muito por alguns generos como o *Lecithostaphilum* (fig. 17).

Esta familia é até agora representada no Brasil apenas por 4 especies, uma mencionada por DIESING, uma por BRAUN e duas por nós. É evidente porém, que pesquizas continuadas aumentarão muito esta lista.

Neste trabalho nosso seguiremos a orientação do antorior sobre o mesmo assunto: faremos uma chave geral de sub-familias e generos, daremos em seguidas uma lista de especies com a descrição das especies brasileiras.

A chave será elucidada por um esquema demonstrativo dos diversos generos e tambem dos generos *Isoparorchis* (fig. 16) e *Lecithostaphilum* (fig. 17).

Chave das sub-familias e generos.

1 — Vitelinos lobados ou redondos; testiculos na area intracecal:
Gorgoderinae.

A — Corpo cilindrico.

B — 9 testiculos:
Gorgodera (Fig. 10)

B' — 2 testiculos:
Gorgoderina (Fig. 11)

A' — Corpo chato:

C — Cecuns fusionados posteriormente:
Macia (Fig. 8)

C' — Cecum?, face abdominal com um disco saliente estriado:
Xystretum (Fig. 9)

C" — Cecuns não fusionados posteriormente:

D — Vitelinos na zona ovariana ou pós-ovariana:
Catroptoides (Fig. 7)

D' — Vitelinos pré-ovarianos:
Phyllodistomum (Fig. 6)

II — Vitelinos ramificados ou em cacho; testiculos intra ou extra-cecais:

a — Testiculos ramificados ou desdobrados:
Anaporrhutinae

b — Testiculos ramificados, na area cecal:
Plesiochorus (Fig. 5))

b' — Testiculos numerosos, na area cecal ou extra-cecal:

c. Vitelinos extra-cecais:
Probolitrema (Fig. 4)

c' — Vitelinos intra-cecais:

d — Testiculos na area cecal, intra e extra-cecal:
Anaporrhutum (Fig. 1)

d' — Testiculos na area extra-cecal:

e — Testiculos grandes, dois a tres de cada lado:
Petalodistomum (Fig.3)

e' — Testiculos pequenos, muito numerosos:
Staphylorchis (Fig. 2)

a' — Dois testiculos redondos:
Callodistominae.

aa — Testiculos extra-cecais:
Callodistomum (Fig. 12)

aa' — Testiculos intra-cecais:

bb — Cecuns curtos; extremidade cefalica com conformação peculiar:
Thaumatocotyle (Fig. 14)

bb' — Cecuns longos, extremidade cefalica normal:

cc — Corpo extreito; vitelinos com poucos acnes:
Cholepotes (Fig. 15)

cc' — Corpo largo; vitelinos de numerosos acnes:
Prosthenhystera (Fig. 13)

Lista das especies.

Gorgoridae LOOSS, 1901.

Gorgorinae LOOSS, 1899.

Gorgoridera LOOSS, 1899.

Gorgodera cygnoides (ZEDER, 1800) tipo.
Gorgodera amplicava LOOSS, 1899.
Gorgodera loossi SSINITZIN, 1905.
Gorgodera pagenstecheri SSINITZIN, 1905.
Gorgodera varsoviensis SSINITZIN, 1905.
Gorgodera australiensis JOHNSTON, 1912.
Gorgodera minima CORT, 1912.
Gorgodera circava GUBERLET, 1920.

Gorgoriderina LOOSS, 1902.

Gorgoderina simplex (LOOSS, 1899) tipo.
Gorgoderina vitellilobata (OLSSON, 1876).
Gorgoderina translucida (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina opaca (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina attenuata (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina parvicava TRAVASSOS, 1920. (Fig. 18—20).

Comprimento: 6 a 11 mm.; largura 1 a 2 mm. Corpo fusiforme, atenuado para as extremidades, quando vivo de côr rosea; cuticula lisa, sem espinhos; ventosa oral grande, fórte, subterminal, mede cerca de 0,47 a 0,70 mm. de diametro nos exemplares comprimidos; farinje ausente; esofago em fórma de Y, pouco musculoso, mede cerca de 0,17 a 0,47 mm. de comprimento; cecos largos, estendendo-se até perto da extremidade posterior do corpo; acetabulum musculoso, pequeno, mede cerca de 0,31 a 0,56 mm. de diametro; póro genital mediano, abaixo da bifurcação esofajiana; bolsa do cirrus ausente, existe um longo canal de paredes pouco nitidas, canal ejaculador, que comunica a vesicula seminal, situada na rejião dorsal, com o atrium; vesicula genital de paredes pouco diferenciadas, pouco volumosa, o canal ejaculador méde mais ou menos 0,78 mm. de comprimento; testiculos afastados um do outro, intracecais, dorsais, elipsoides, medem respectivamente cerca de 0,52 a 0,87 mm. por 0,31 a 0,71 mm. o anterior, e 0,61 a 1 mm. por 0,31 a 0,78 mm. o posterior; ovario elipsoide, pré-testicular, em parte no campo testicular, pos-acetabular, com a zona em contacto com a dos vitelinos, mede cerca de 0,45 a 0,64 mm. de comprimento por 0,26 a 0,43 mm. de largura maxima; vitelinos elipsoides, de contorno regular, pré-ovarianos, abaixo da glandula da casca, medem cerca de 0,28 a 0,40 mm. de comprimento por 0,14 a 0,28 mm. de largura maxima, comunicam-se com a glandula da casca por um curto canal em fórma de Y; glandula da casca acima da zona dos vitelinos e abaixo da zona acetabular, mede cerca de 0,15 a 0,26 mm. de comprimento por 0,08 a 0,17 mm. de largura maxima; utero com numerosas alças ocupando toda a porção do corpo pos-ovariana, quer na area extra, quer na intracecal; acima do ovario as alças uterinas tornam-se volumosas e repletas de ovos maduros até pouco acima da zona acetabular onde diminuem de diametro para constituir uma vajina pouco musculosa que se abre em um curto atrium; ovos com cerca de 0,039 a 0,042 mm. de comprimento por 0,028 mm. de maior largura.

Habitat: Vesicula urinaria de *Leptodactylus ocelatus.*

Prov. Manguinhos, Angra dos Reis, São Paulo (Instituto Bacteriolojico). Esta especie encontrámos em Manguinhos parasitando rãs não muito frequentemente, mas por vezes em grande numero. Em Angra dos Reis, encontrámos uma

vez numerosos exemplares sendo alguns de dimensões muito grandes. Em material que nos foi enviado do Instituto Bacteriolojico de S. Paulo, colecionado pelo Dr. A. LUTZ, encontrámos tambem exemplares desta especie com o rotulo: *Distoma cygnoides*. E' tambem a esta especie que se deve identificar o *Pleorchis cygnoides* GALLI VALERI, 1909.

Distingue-se a especie brasileira de todas as outras do genero pela dimensão reduzida do acetabulum relativamente a ventosa oral.

Cuticula e corpo: A cuticula é desprovida de espinhos. A musculatura do corpo é fraca, lijeiramente mais condensada junto a cuticula sendo a porção interna constituida por uma rede de fibrilas de malhas muito largas onde se encontram grandes celulas. O acetabulum é constituido por fibrilas muito afastadas e pouco diferenciadas.

Aparelho dijestivo. A ventosa oral é fórte com fibras radiais e algumas anulares, tem estrutura fórte mas a musculatura não é exajerada. Segue-se imediatamente o esofago, absolutamente sem farinje. É sinuoso e curto.

Em torno do esofago existem algumas celulas grandes, piriformes que provavelmente tem função glandular.

O revestimento interno do esofago é fórte, bastante espesso e a porção muscular da parede relativamente delgada. O intestino é continuação do esofago sem trasição nitida e apresenta revestimento interno mais delgado que este.

Aparelho reprodutor: O póro genital da entrada a um curto vestibulo ou atrium genital onde se abrem os canais macho e femea sendo o macho anterior e o femea posterior. O canal macho (fig. 19). conduz a um reservatorio de espermatozoides situado dorsalmente, é de paredes fracas e de direção ventro-dorsal e é guarnecido externamente por muitas glandulas prostaticas. O reservatorio de espermatozoides tem paredes muito delgadas, quasi nulas; apresenta uma abertura antero-ventral que comunica com o canal ejaculador e outra postero dorsal comunicando com o canal deferente, inicialmente unico, mas bifurcando-se para ir aos testiculos.

Os canais deferentes são muito delgados e de luz pequena. Dirijem-se de diante para traz dorsalmente as alças uterinas e chegam aos testiculos pela face anterior.

Os testiculos são envolvidos por uma membrana delgada e tem a estrutura peculiar ao testiculo dos trematodeos. Nos individuos mais novos ha um grande numero de celulas em toda a massa testicular, nos individuos velhos as celulas da porção central acham-se todas transformadas em espermatozoides e as da periferia ainda estão nas divisões iniciais.

O ovario tem a estrutura peculiar, dele parte um oviduto que se reune aos vitelodutos na glandula da casca. O oviduto é muito curto e é seguido do utero sem transição nitida. O utero tem as primeiras porções de paredes espessas e calibre pequeno, adiante porém, torna-se de paredes delgadas e calibre grosso (fig. 19). É muito sinuoso e primeiramente dirije-se para a face dorsal até a visinhança da cuticula, dirije-se em seguida para a extremidade posterior por um lado do parasito, formando muitas alças, até atinjir a extremidade posterior. Dai caminha para a extremidade anterior ocupando o lado oposto ao que se dirije para traz e tambem a face ventral. Ao nivel do acetabulum fórma grandes alças muito largas e do acetabulum para diante diminue progressivamente até se transformar em uma vajina (Fig. 19) de paredes relativamente espessas e guarnecidas exteriormente de glandulas unicelularis piriformis. A vajina termina

no atrium posteriormente á abertura ♂.

Não observamos canal de Laurer nem reservatorio seminal femeo.

Aparelho excretor: A vesicula é tubular e unica, de calibre relativamente pequeno. Dirije-se de traz para diante dorsalmente as alças uterinas.

Resumindo temos que este parasito se caracterisa por uma extrutura pouco musculosa e pelo grande desenvolvimento uterino.

Não obstante o parentesco evidente entre os generos *Gorgodera* e *Gorgoderina* não temos duvidas relativamente a nitida caraterisação pelo diferente numero de testiculos, sempre constante e sem fórmas intermediarias, não obstante os multiplos testiculos do genero *Gorgodera* poderem ser considerados como testiculos lobados visto sua distribuição em série.

Phyllodistomum BRAUN, 1899.

P. folium (OLFERS, 1816) tipo.
P. conostomum (OLSSON, 1876).
P. patellare (STURGES, 1897).
P. acceptum LOOSS, 1901.
P. unicum ODHNER, 1902.
P. linguale ODHNER, 1902.
P. americanum OSBORN, 1903.
P. superbum STAFFORD, 1904.

Catroptoides ODHNER, 1902 in LOOSS.

Catroptoides spatula (ODHNER, 1902) tipo.
Catroptoides spatuliformis (ODHNER, 1902).
Catroptoides macrocotyle LUHE, 1909.
Catroptoides angulatus (V. LINSTOW, 1907.)

Macia TRAV., 1920.

Corpo chato com um segmento conico anterior, pré-acetabular e um posterior, circular. Ventosa oral grande, circular; acetabulum pré-equatorial; farinje ausente; cecos fusionados; póro genital mediano, abaixo da bifurcação esofajiana; testiculos lobados, equatoriais, com zonas coincidindo e campos afastados; ovario no campo de um dos testiculos, zona em contato com a dos testiculos; vitelinos lobados profundamente, na zona ovariana, campos separados, para dentro dos campos testiculares ou em parte nos campos testiculares; disco ventral estriado ausente.

Habitat: Vesicula urinaria de peixes.

Especie tipo: *M. magna* (MAC CALLUN, 1917).

Outras especies. *M. aluterae* (MAC CALLUN, 1917).

Macia pulchra TRAV., 1920.
(Fig. 21 e 23).

Comprimento: 4,5 mm. largura 3 mm.

Corpo chato, delicado, em fórma de viola, isto é, a porção posterior é mais ou menos circular e a porção anterior conica e estreita; cuticula sem espinhos; ventosa oral, forte, menor que o acetabulum, mede cerca de 0,49 mm. de diametro; pharinje ausente; esofago sinuoso, largo, mede cerca de 0,24 mm; cecos unidos na extremidade posterior, de grossura uniforme, de cerca de 0,21 mm. de largura; acetabulum fórte pre-equatorial, mede cerca de 0,71 mm. fica no ponto de separação da porção anterior conica e da posterior circular; póro genital logo atraz da bifurcação intestinal; bolsa do cirrus com cerca de 0,31 mm. de comprimento, musculosa e com vesicula seminal pequena; testiculos lobados e elipsoides, transversais, medem 0,38 por 0,29 mm. e 0,43 por 0,22 mm. post-equatoriais, zonas coincidindo, campos afastados; ovario redondo com 0,21 mm. de diametro, zona em contato com a zona testicular, campo coincidindo com o do testiculo esquerdo; vitelinos equatoriais constituidos por 3 a 4 lóbos dijitiformis, medem mais ou menos 0,31 por 0,12 e 0,28 por 0,08 mm. com os campos proximos, e situados para dentro

dos campos testiculares, zonas coincidindo, acima e em contato com a zona ovariana; utero na area intra-cecal e post-acetabular; ovos de dimensões muivariaveis, havendo alguns muito pequenos, não obstante parecerem perfeitos, medem, os maiores cerca de 0,051 a 0,57 mm. poor 0,028 a 0,034 mm. de largura maxima, os menores medem até 0,026 mm. de comprimento por 0,015 mm. de largura maxima; póro excre- sub-terminal; vesicula excretora cilindrica, reta.

Habitat: Vesicula urinaria de Balacú- *Spheroides testudineus* (L.)

Proveniencia: Manguinhos.

Esta especie é relativamente comum nos «baiacús» da bahia do Rio de Janeiro. Aproxima-se bastante das especies descritas por MAC CALLUM. Em um exemplar notamos uma anomalia por supressão de um dos testiculos (Fig. 21). É especie muito delicada e tem, em vida, o corpo translucido mais pouco transparente. Não obstante examinarmos algumas dezenas de exemplares nunca observamos separação dos cecos apezar de em alguns exemplares não serem facimente visiveis sem auxilio de artificios de tecnica, mas isto devido a pouca transparencia do parasito. Notamos tambem uma grande variação das dimensões dos ovos, mesmo em ovos com toda a aparencia de fecundados.

Nesta especie póde-se observar, em exemplares muito transparentes um lijeiro inicio de estriação semelhante ao referido para o genero *Xystretum* sobre cujo valor sistematico discutiremos quando tratarmos deste genero.

Xystretum LINTON, 1910.

LINTON define este genero do modo seguinte:

Pescoço cilindrico, corpo sub-orbicular e com marjens delgadas e com a porção central espessa e sulcada por numerosas estrias transversais pouco salientes; testiculos opostos, pós-acetabulares, ovario prétesticular; vitelinos medianos, abaixo do acetabulum e adiante dos testiculos; utero abaixo dos testiculos; abertura genital mediana; abaixo da ventosa oral; farinje ausente; extremidades posteriores do intestino aproximadas mas não se podendo saber se fusionados ou não.

O autor não menciona especialmente um tipo mas deve ser considerado o *X. solidum* LINTON, 1910, descrito anteriormente como *Distomum sp.* Em seguida este autor descreve com o nome de *X. papillosum* uma outra especie na qual como na primeira não poude ver se havia ou não fusão intestinal. Em ambas as especies o disco ventral é muito distinto.

O *X. papillosum* apresenta curiosas formações cuticulares que LINTON chamou de espinhos; « Papillar spines cover the neck and body and line the cavities of the suckers ». Nós parece que este dispositivo particular bastaria para caracterizar um genero.

Quando, em 1920, apresentamos o nosso primeiro trabalho sobre este grupo de parasitos ainda não tinhamos conseguido obter o trabalho de LINTON. Por este trabalho verificamos que o nosso genero *Macia* muito se aproxima de *Xystretum*, não só pela provavel fusão dos cecos como pela existencia em *M. pulchra* de um vestijio de estriação na face ventral, vestijio representado por 3 a 4 linhas situadas de cada lado, lógo abaixo do acetabulum, com inicio na marjem do corpo e que desaparecem lógo adiante. Aliás em nada confundivel com a formação descrita por LINTON. Infelizmente a especie tipo do genero *Xystretum* é descrita e represantada de módo insuficiente.

Quanto a *X. papillosum*, bem descrito e representado é perfeitamente justificavel a diferença generica.

Na falta de bôa figura do *X. solidum*

tiramos nossas ilustrações do *X. papillosum* (Fig. 22).

O genero *Xystretum* tem as seguintes especies:

X. solidum LINTON, 1910. tipo.
X. papillosum LINTON, 1910.

Anaporrhutinae LOOSS, 1901.

Anaporrhutum OFENHEIM, 1900.

A. albidum BRANDS, 1900. Tipo.
A. largum LUHE, 1906.

Petalodistomum JOHNSTON, 1913.

P. polycladum JOHNSTON, 1913.

Staphylorchis TRAV., 1920.

Anaporrhutinae; corpo chato, largo; farinje presente; cecos sinuosos sem diverticulos; vitelinos intra-cecais; testiculos extra-cecais, muito pequenos e numerosos.

Esp. tipo. *S. cymatodes* (JOHNSTON, 1913)

Habitat: Na cavidade geral de raias, Australia.

Esta especie foi incluida por JOHNSTON em seu genero *Petalodistomum*. Julgamos conveniente a separação em genero a parte pois se aproxima mais do genero *Anaporrhutum* que de *Petalodistomum*.

A disposição dos cecos e dos testiculos nos parece bastante para caracterisar um genero a parte. Menor diferença existe entre *Phylodistomum* e *Catroptroides* e entre *Gorgodera* e *Gorgoderina*.

Probolitrema LOOSS, 1902.

P. ricchiardii (LOPEZ, 1888). Tipo.
P. capense LOOSS, 1902.

Plesiochorus LOOSS, 1801.

P.cymbiformis (RUDOLPHI, 1819) Tipo.

Callodistominae ODHNER, 1911.

Callodistomum ODHNER, 1902.

Callodistomum diaphanum ODHNER, 1902.

Prosthenhystera TRAV., 1920.

Callodistominae; ventosa oral subterminal; farinje muito reduzido; cecos longos, delgados, pouco sinuosos; bolsa do cirrus presente com pequena vesicula seminal não circunvoluta; testiculos na area intra-cecal, equatoriais, simetricos; ovario pre-testicular, pos-acetabular; vitelinos pré-ovarianos, na area intra e extra-cecal; utero ocupando toda a estensão do corpo abaixo do póro genital e invadindo a area extra-cecal ao lado do esofago até a zona da ventosa oral; vesicula excretora alongada, ampla; ovos com nitida mancha escura em fórma de 8.

Esp. tipo.: *P. obesa* (DIESING, 1850).

Habitat: Vesicula hepatica de Sal monideos do vale de Prata e do S. Francisco. Este genero se aproxima muito do *Callodistomum* do qual se distingue pela posição intra-cecal dos testiculos, pelo intestino menos largo e não sinuoso e pela posição do utero que invade dorsalmente todo o corpo deixando livre apenas uma pequena area em torno do esofago.

P. obesa (DIESING, 1850).
(Fig. 13, 24, 26, 30–32).

Sin: *Distomum obesum* DIESING, 1850 a p. 361
Distomum obesum DIESING, 1855 p. 67. pl. 111. fig. 11—13.
Distomum obesum DIESING, 1858e. p. 341.
Distomum obesum COBBOLD, 1860a. p. 24.
Distomum obesum COBBOLD, 1879b, p. 458.
Distomum obesum STOSSICH, 1886. p. 53.

Distomum obesum ODHNER, 1902. p. 152.

Posthenhystera obesa TRAVASSOS, 1920 Soc. Bras. de Sc. (Braz. Med. Ann. 36, p. 19 (1922).

Comprimento: 14 mm. (3 a 7 mm. DIESING,); largura 8 mm. (2 a 5 mm. DIESING,). Corpo elipsoide chato; ventosa oral subterminal, fórte, mede cerca de 1 a 1,2 mm. de diametro; farinje muito pequeno, mede cerca de 0,34 mm.; esofago delgado com cerca de 1,3 mm. de comprimento; cecos estreitos, pouco sinuosos, são mais largos do que o esofago até a zona acetabular, dai em diante mais estreitos; acetabulum pré-equatorial, fórte mais ou menos do tamanho da ventosa oral, mede cerca de 0,95 a 1,3 mm. de diametro; póro genital mediano, lógo abaixo da bifurcação do esofago; bolsa do cirrus constituida por um nucleo musculoso, alipsoide atravessado no sentido antero-posterior por um canal estreito tendo no terço posterior uma dilatação que constitue a vesicula seminal, parece não haver penis, mede cerca de 0,6 a 1 mm. de largura por 1,1 a 1,8 mm. de comprimento; testiculos relativamente pequenos, redondos, na area intra-cecal e as vezes em parte na area cecal, equatoriais, com as zonas coincidindo e em contato com a do ovario, campos afastados, e em contato com o campo ovariano, medem cerca de 0,60 a 0,78 mm. por 0,52 a 0,59 mm.; ovario redondo, pré-testicular com a zona pouco afastada da zona acetabular, com o campo em contato com o do acetabulum, mede 0,87 por 1, mm.; vesicula seminal presente, na zona ovariana; vitelinos dispostos em dois semicirculos abraçando o acetabulum, começam na zona ovariana e terminam na da bolsa do cirrus e na area intra-cecal e terminam na extra-cecal, são constituidos por grupamentos de acnes pequenos; glandula da casca pos-ovariana; utero com grandes desenvolvimento, ocupa toda a porção do corpo pos-acetabular, na area intra-cecal e pré-acetabular encontram-se grandes e largas alças com ovos maduros, na area extra-cecal encontram-se alças muito acima dos vitelinos, onde são menos numerosas, e atinjem a zona da ventosa oral; ovos elipsoides, sem operculo aparente e tendo no interior uma grande mancha escura de contorno irregular em fórma de 8 ou de V, medem cerca de 0,063 a 0,070 mm. de comprimento por 0,035 a 0,049 mm, de maior largura; vesicula excretora alongada, ampla e em Y de ramos muito curtos.

Habitat: Vesicula hepatica de: *Salminus brevidens* (Dourado.) *Leporimus friderici, Xephostoma cuviere,* mencionados por DIESING; *Salminus brevidens, Leporinus sp.* (Piaú).

O material de DIESING foi colecionado por NATTERER em Matto-Grosso. O nosso material consta de: 3 exemplares sendo um completamente esmagado e outro tambem bastante estragado e um em bom estado. O primeiro e o ultimo, foram colhidos em Dourado e são muito maiores e o outro em Piáu. Foram colecionados em Porto Tibiriçá pelos Drs. LUTZ, FONSECA & ARAUJO. Temos tambem abundante material de Dourado colhido em Lassance, Minas-Geraes, graças ao qual podemos fazer a descrição anatomica abaixo. Recentemente capturamos dois grandes e belos exemplares em *S. brevidens* no rio Cuyabá—Matto Grosso.

Cuticula e *musculatura:* A cuticula é desguarnecida de espinhos e relativamente grossa; na face ventral a cuticula é sensivelmente mais grossa que que na face dorsal. A musculatura do corpo é fórte, porém não muito. Existe lógo abaixo da cuticula uma camada de fibras musculares lonjitudinais e abaixo desta uma transversal. Destas fibras partem prolongamentos para o in-

terior do corpo onde as vezes formam feixes grossos.

A musculatura da ventosa é fórte sendo a maioria das fibrillas radiais. Existem tambem revestimento muscular nas porções terminais dos condutos genitais.

Aparelho dijestivo: A ventosa oral não é fórte e é seguida emediatamente pelo farinje esferico e pouco desenvolvido.

Tem interiormente um revestimento muito fórte.

O esofago é delgado, tem um revestimento muito fórte no interior e exteriormente fibrilas musculares e numerosas celulas grandes que parece terem função glandular. Lógo em seguida a bifurcação esofajiana ficam os cecos que são delgados. Suas paredes distinguem-se das do esofago pela ausencia das celulas exteriores e pela cuticula interna muito mais grossa e formando numerosas pregas papilares.

Aparelho reprodutor: Os testiculos situados lateralmente estão mais ou menos na mesma zona, de cada um deles parte um canal que se dirije obliquamente de fora para dentro e de traz para diante até se encontrarem pouco adiante da area acetabular onde se reunem e penetram pela porção posterior da bolsa do cirrus.

A bolsa do cirrus é um orgão saciforme de paredes muito espessas e que realmente não é uma bolsa de cirrus sendo apenas um orgão homologo a este.

É piriforme tendo a dilatação maior dirijida para traz e onde se encontra uma ampla cavidade repleta de espermatozoides, constituindo uma vesicula seminal macho, esta vesicula se comunica posteriormente com o canal deferente e anteriormente se prolonga em um forte canal ejaculador situado no pólo delgado da bolsa. Este canal é sinuoso e de paredes musculosas sendo interiormente revestido por fórte cuticula que é prolongamento da cuticula externa. Ao sair da bolsa o canal ejaculador une-se á vajina constituindo um canal unico ou atrium de cerca de 160 micra de comprimento por 60 micra de largura. Este atrium tem como o canal ejaculador uma fórte cuticula que é continuação da cuticula externa. Não ha um cirrus protatil. Difere este dispositivo do da *Gorgoderina parvicava* apenas pela maior musculatura.

A vajina que tem orijem no atrium, é de extrutura muito semelhante ao canal deferente. Dirije-se para traz ventralmente a bolsa do cirrus dando varias curvas para, alargando-se, constituir o utero. As primeiras alças uterinas ficam na area intra-cecal, são grandes e de paredes mais fórtes, as ultimas ocupam toda a area do corpo, intra e extra cecal, atinjindo a zona farinjeana, só não invadindo o campo da ventosa oral até a bifurcação esofajiana. Suas paredes são delgadas e fracas.

As alças uterinas ocupam toda a area do corpo mas só na face ventral (fig. 31 e 32) ficando a face dorsal ocupada por um parenquima frouxo e pela vesicula excretora. O ovario fica situado medianamente e geralmente é bem menor que os testiculos. Ao seu lado fica uma vesicula seminal, bem menor que ele, e a glandula da casca. Existe um canal de LAURER que se abre dorsalmente na zona ovariana.

Os vitelinos constituidos por grupamento bem separados de foliculos glandulares tem a extrutura comum, ocupam uma faixa obliqua que vae da zona testicular até acima da zona acetabular inicialmente na area intra-cecal termina na area extra cecal. O canal excretor é dirijido de fóra para dentro e de diante para traz.

Aparelho excretor: A vesicula excretora é constituida por uma grande cavidade dobrada sobre si de modo a suas paredes formarem pregas. Esta cavidade se estende medianamente até a zona

ovariana e apresenta na porção mais anterior diverticulos. Suas paredes são fortes e guarnecidas de algumas fibras musculares.

Cholepotes ODHNER, 1911.

C. ovofarctus (ODHNER, 1902).

Thaumarhocotyle ODHNER, 1911.

Callodistominae de cecos curtos; vitelinos de poucos acnes, pré-testiculares; testiculos intra-cecais, de campos afastados e de zonas coincidindo em parte, pos-acetabulares e pré-equatoriais; ovario no campo do testiculo posterior e na zona do antreior; extremidade anterior com conformação peculiar.

Especie unica: *T. pulvinata* (BRAUN, 1899).

O nome generico é ocupado por SCOTT, 1904. Neste sentido escrevemos a ODHNER, mas ainda não recebemos resposta—Acreditamos contudo já tenha sido mudado.

Thaumarhocotyle pulvinata (BRAUN., 1899).

(Figs. 14, 25, 27—29).

Sin: *Distomum pulvinatum* BRAUN, 1899 e, p. 630.
Distomum pulvinatum BRAUN, 1901, a, p. 24. fig. 18.
Distomum pulvinatum ODHNER, 1902. p. 153.
Thaumatocotyle pulvinata ODHNER, 1911. Swedish. Zool. Esp. p. 20. test. f. a—d.

Comprimento: 4 mm.
Largura: 0,9 mm.

Corpo achatado, com a extremidade anterior alargada e de conformação peculiar; extremidade posterior acuminada; cuticula sem espinhos.

A extremidade anterior apresenta, ventralmente, a ventosa oral, fórte, subterminal, e dorsal e lateralmente duas formações musculares simetricas.

Estas formações (Fig. 27 e 28) são representadas por saliencias musculares tendo orijem nos bordos do corpo ao nivel do limite inferior da ventosa e dirijidas para traz e para diante (Fig. 27), curvas, de concavidade anterior e que se reunem na face dorsal (Fig. 28). Estas formações limitam, de cada lado, em sua concavidade, um espaço simulando pseudo ventosa, feixado anteriormente pela ventosa oral e uma saliencia muscular existente junto ao bordo desta, interpretados por ODHNER como orgão de fixação.

A ventosa oral méde de diametro cerca de 0,47 mm. Acetabulum pré-quatorial, transversalmente alongado, mede de diametro 0,45 e 0,50 mm.

Farinje relativamente pequeno, lógo em seguida a ventosa oral, mede 0,1 mm.; esofago duas ou tres vezes mais longo que o farinje; cecos curtos, apenas ultrapassando o equador do corpo; Póro genital mediano, pré-acetabular; bolsa do cirrus pré-acetabular, tendo no interior uma vesicula seminal tubular, uma pars prostatica em fórma de vesicula e um cirrus muito curto e fino; testiculos esfericos, de campos afastados e zonas em parte coincidindo, pré-equatoriais e lógo abaixo da zona acetabular; canais deferentes as vezes muito nitidos; ovario elitico, no campo do testiculo direito, tendo a zona em contato com a do testiculo do mesmo lado e coincidindo com a do testiculo do lado oposto; vitelinos constituidos por 8 a 9 foliculos situados desde a zona acetabular até a zona ovariana, na area cecal e intra-cecal; os foliculos são providos de canais excretores muito nitidos que se reunem em dois troncos transversais que terminam em um reservatorio mediano; vesicula seminal pequena, atraz do acetabulum; utero constituido por uma porção decendente e outra acendente que se entrecruzam na linha mediana, intercecal na porção onde existem os cecos, e posteriormente a estes estendem-se até a marjem do corpo.

Ovos elipsoides, de casca fina e portadores de miracidium provido de fórte mancha ocular (Fig. 29), medem 0,041 mm. de comprimento por 0,023 mm. de largura maxima; os miracideos dos ovos da porção terminal do utero já estão livres.

Vesicula excretora tubular e atingindo o testiculo anterior,

Habitat: Tartarugas fluviais do Amazonas.

Esta especie descrita primeiramente por BRAUN, que a representou em 1901, foi mais tarde estudada por ODHNER que corrijio a descrição da extremidade anterior e descreveu a bolsa do cirrus e a vesicula excretora, estabelecendo para ela novo genero incluindo na sub-familia *Callodistominae.*

A nossa descrição é tirada das de BRAUN e ODHNER bem como as figuras. A localisação nos hospedadores nem os nomes cientificos destes foram referidos no material.

Nota.

Isoparorchinae TRAV., 1920.

Corpo ovoide: cecos sinuosos; póro genital mediano, pré-acetabular; acetabulum pré-equatorial; testiculos redondos, lógo abaixo da 1ona acetabular, pré-ovarianos; ovario cilindrico pós-equatorial, pós-uterino; utero com poucas e delgadas alças; vetielinos ramificados pós-ovarianos, intra-cecal e extra-cecal; vesicula excretora com dois ramos que acompanham os cecos.

Genero unico: *Isoparorchis* SOUTHEWELL, 1914.

Habitat: Peixes da Asia.

Este genero é sinonimo de *Leptolecithum* KOBAYASHI, 1915.

O trabalho primitivo de KOBAYASHI é um japonez, mas posteriormente foi publicado em inglez no « Parasitology » permitindo uma completa identificação dos generos.

Este genero tem o aspeto dos *Callodistominae* mas a curiosa disposição e fórma do ovario, bem como a posição do vitelino demonstra ser um *Hemuiridae;* quanto a vesicula excretora parece-nos ter SOUTHEWELL considerado como fazendo parte dela as duas principais lacunas.

I. trisimilitubis SOUTHEWELL, 1941 (tipo).

1. *eurytrema* (KOBAYASHI, 1915)

Referimos aqui esta nota por termos em nosso trabalho anterior feito referencia a esta sub-familia como fazendo parte dos *Gorgoderidae.*

Explicação das figuras.

Est. 26.

Fig. 1—Eschema de Anaporrhutum
« 2—Eschema de Staphylorchis.
« 3—Eschema de Petalodistomum.
« 4—Eschema de Probolitrema.
« 5—Eschema de Plesiochorus.
« 6—Eschema de Phyllodistomum.
« 7—Eschema de Caloptroides.
« 8—Eschema de Macia.
« 9—Eschema de Xystretum.
« 10—Eschema de Gorgoderina.
« 11—Eschema de Gordera.
« 12—Eschema de Callodistomum.
« 13—Eschema de Prosthenhystera.
« 14—Eschema de Thaumatocotyle.
« 15—Eschema de Cholepotes.
« 16—Eschema de Isoparorchis.
« 17—Eschema de Lecithostaphilum.

Est. 27

Fig. 18—*Gorg. parvicava*—total.
« 19—*Gorg. parvicava*—porção anterior.
« 20—*Gorg. parvicava*—vitelinos e gland. da casca.
« 21—*Macia pulchra*—exemplar anomalo com um só testiculo.
« 22—*Xystretum papillosum*—seg. LINTON.

Est. 28

Fig. 23—*Macia pulchra*—total. (A escala corresponde a 1 mm.)
« 24—*Prosthenhistera obesa* total. (A escala corresponde a 1 mm.)
« 25—*Thaumatocotyle pulvinata*—seg. BRAUN.
« 26—*Prosthenhystera obensa*—ovos. (A escala corresponte a 0,1 mm.)
« 27—*Thaum. pulvinata*—seg. ODHNER, face lateral.
« 28—Idem face dorsal.
« 29—Idem ovo seg. ODHNER.

Est. 29.

Fig. 30—*Prosth. obesa*—Córte lonjitudinal mostrando a bolsa do cirrus, vesicula seminal e a abertura genital com a confluencia da vajina e do canal macho. Ve-se tambem uma seção obliqua do intestino.

Fig. 31 *P. obesa*—Córte lonjitudinal vendo-se seções do utero, vesicula seminal femea, canal de Laurer, vesicula excretora e uma parte do acetabulum.

Est 30.

Fig. 32—*Prosth. obesa*—Córte lonjitudinal ventro dorsal mostrando numerosas seções uterinas dispostas lateralmente e ventralmente *ut);* bolsa do cirrus *(b. cir.)* e abertura dos canais deferentes *(c. d.)* vendo-se no interior a vesicula seminal *(v. s.);* segmentos do intestino *(int.)* alguns acnes dos vitelinos extra e intracecais *(vit.);* vesicula seminal femea *(rec.);* glandula da casca *(gl. c.);* canal de Laurer *(c. l.);* ovario *(ov.)* e vesicula excretora *(v. excr.)*

BIBLIOGRAPHIA.

BRAUN, 1899—Weitere Mittheilungen ueber endoparasitische Trematoden der Chelonier. Centr. f. Bakt. paras. etc. XXVI, p. 627.

BRAUN, 1901—Trematoden der Chelonier. Mitt. Zool. Mus. in Berlin, ii B. 1 H.

COBBOLD, 1860—Synopsis of the Distomidae. J. Proc. Linn. Soc. Lond. V, p. 1—55.

COBBOLD, 1879—Parasites; a treatise on the entozoa of man and animals, including some account of the entozoa.

CORT, 1912—North American frog blader flukes. Trans. Micr. Soc. V, 13, p. 151.

DIESING, 1850—Systema helmintum.

DIESING, 1855—Neunzehn Arten von Trematoden. Denhschr. d. k. Akad. d. Wiss. Wien, V. 10, p. 59—70, pl. 1—3.

DIESING, 1858—Revision der Myshelminthen-Trematoden. Sitz. d. k. Akad. d. Wien, V. 32, p. 207.

GALLI-VALERIO, 1909—Notes de parasitologie et de technique parasitologique. Centr. f. Bakt. V. 51, p. 538.

GUBERLET, 1920—A new bladder fluke from the frog. Trnas. Am. Micr. Soc. V. XXXI, p. 142.

JOHNSTON, 1912—On some trematodes parasites of australian frogs. Proc. Linn. Soc. New. S. Wal. XXXVII, p. 285.

JOHNSTON, 1913—On some Queensland trematodes, with anatomical observations and descriptions of new species and genera. The Quart. J. of Micr. Sc. V. 59, p. 3.

KOBAYASHI, 1921—On some digenetic trematodes in Japan. Parasitology. V. XII, p. 380.

v. LINSTOW, 1907—Zwei neue Distomum aus Lucioperca sandra der Wolga. St. Peterburg. Ann. Mus. Zool. Ac. Sc. V. 12, p. 201—2.

LINTON, 1907—Notes on Parasites of Bermuda Fishes. P. U. S. Nat. Mus. V. 36, p. 85 pl. I—XV.

LINTON, 1910—Helminth fauna of the Dry Toortugas-ii, Trematodes. Carn. Inst. of Wassington, nº. 133.

LOOSS, 1899—Weitere Beitraege zur Kenntniss der Trematoden-Fauna Aegypteus, zugleich Versuch einer naturlichen Gliderung Genus Distomum Retzius. Zool. Jahrb. V. XII, p. 521.

LOOSS, 1901—Natura doceri etc. Centr. F. Bakt. v. 29, p. 29, p. 191.

LOOSS, 1902—Uber eine Distomen aus Labriden des Triester Hafens. Centr. F. Bakt. Bd. 29, p. 405.

LOOSS, 1902—Ueber neue und bekannt Trematoden aus Seeschildkroeten. Zool. Jahrb. V. XVI, p. 411.

LOPEZ, 1888—Un Distoma probabilmente nuovo (D. richiardii). Att. Soc. Tosc. Sc. Nat. Pisa-Proc. Verb. nº. 6, p. 137.

LUEHE, 1906—On the trematode parasites from the Marine fishes of Ceylon, Rep. Gov. Ceylon Pearl Oyster Fisheries, p. 97.

LUEHE, 1909—Die Suesswass. Deutschl. Helf. 17.

MAC CALLUM, 1917—Some new forms of Parasitic worms. Zoopathologica, V. i, nº. 2, p. 45.

ODHNER, 1902—Mietteilungen fur kenntnis der Distomen ii. Centr. f. Bakt. paras. etc. b. XXXI, p. 152.

ODHNER, 1911—Results of the Swedish Zool. Espednition to Egypt and the White Nile 1901. Fascioliden.

OFENHEIN, 1900—Ueber eine neue Distomiden gatungen. Zeitschr. f. Nat. L. XXIII.

OLFERS, 1916—De vegetativis et animatis corporibus in corporibus animatis reperiundis commentarius. Berl.

OLSSON, 1876—Bidragtill kannedomen om Jentlands fauna i-K. Svensk.—Akad. Handl. Stockolm, V. 14.

OSBORN, 1903—On Phyllodistomum americanum (n. sp.); a new bladder distome from *Amblystoma punctatum*. Biol. Bull. Lancaster, V. 4, p. 252, fig. 1—4.

RUDOLPHI, 1819—Entozoorum synops.

SOUTWELL, 1914—Notes from the Bengal Fischeries Laboratory, Indian Museum. Rec. of the Ind. Mus. V. IX, 1913.

SNITZIN, 1905—Materialy po estestvennoi istorii trematod. Distomy ryp i liagushek okrestnostei Varshavy.

STAFFFORD, 1902—The American representatives of *Distomum cygnoides*. Zool. Jahrb. Syst. V, 17, p. 411.

STAFFORD, 1904—Wissenschaftliche Mitteilungen. i Trematodes from canadian Fishes. Zool. Anz. v. 27, p. 481.

STSSICH, 1886—I distomi dei pesci marin e d'aqua dolce. Progr. d. Ginn. Comm. sup. di Trieste.

STURGES, 1897—Preliminary notes on *Distomum patellare* n. sp. Zool. Bull. Bost. v. 1, p. 57—69, fig. 1—5.

TRAVASSOS, 1920—Contribuições para o conhecimento da fauna helmintolojica brasileira—XIV. Especies brasileiras da familia Gorgoderidae LOOSS, 1901. Bras. Med. Ann. 36, v. i, p. 17. 1922.

TRAVASSOS, 1921—Trematodeos novos II. Braz. Med. Ann. 35, v. i. p. 178.

TRAVASSOS, 1922— Informações sobre a fauna helmintologica de Matto Grosso. Folh. Med. Ann. III, nº. 24, p. 187.

ZEDER, 1800— Erster Nachtrag zur Naturgeschichte der Eingeweidewurmer, mit Zufassen und Anmerkungen herausgegeben.

Elaps Ezequieli e Rhinostoma bimaculatum, cobras novas do Estado de Minas Geraes

pelos

Drs. ADOLPHO LUTZ e OSWALDO DE MELLO

(Do Instituto Oswaldo Cruz) (Da Filial de Bello Horizonte)

(Com a estampa 31).

Entre as cobras do posto ophidico do Instituto Oswaldo Cruz, em Bello Horizonte, foram descobertas pelo Dr. OSWALDO de MELLO 4 especies novas, duas das quaes já foram descriptas na Folha Medica nº. 13, pg. 117 do corrente anno; as outras fazem o assumpto desta communicação:

Elaps Ezequieli n. sp.

Desta especie temos apenas um exemplar, mandado em 1919 de Caxambú, na serra da Mantiqueira, Estado de Minas Geraes. Parece tratar-se de uma femea.

Na chave de BOULENGER, este exemplar entra no grupo III, divisão *B*, paragrapho *c*, com *E. mipartitus* e *Fraseri*, dos quaes se distingue facilmente. Pelo desenho se approxima mais de *Marcgravi*, mas falta o temporal anterior e são mais numerosos os grupos de anneis.

BOULENGER, depois da publicação de seu *Catalogue of Snakes*, descreveu *E. Rosenbergi* (Equador), *Simonsi* (Argentina), *omissus* (Venezuela) e AMARAL descreveu *E. Fischeri* (Estado de S. Paulo, Serra da Bocaina). Ha ainda algumas fórmas duvidosas da America Central.

Apenas *Fischeri* e *Simonsi* se approximam de *Ezequieli*. Todavia são separados pos caracteres anatomicos: presença de temporal anterior e symphysial em contacto com os mentaes anteriores. Para uma appreciação das outras differenças e semelhanças compare-se a descripção

mais minuciosa da nova especie, que damos em seguida:

Comprimento do olho cerca da metade de sua distancia da fenda buccal. Rostral mais alto do que largo, sua porção visivel de cima pouco mais longa que a metade de sua distancia. do frontal. Internasaes pouco mais largos do que compridos, tão longos quanto os prefrontaes. Frontal mais comprido do que largo, mais curto do que os parietaes, que são menos compridos do que a sua distancia da extremidade do focinho. Preocular 1, em contacto com o nasal posterior, postoculares 2, o superior um pouco maior. Temporal anterior ausente, temporal posterior 1. Supralabiaes 7; o 3º e o 4º em contacto com a orbita, aquelle apenas por um ponto e este por todo o bordo superior; o 6º muito maior do que os outros e em contacto com o parietal, o 7º bem desenvolvido.

Symphyseal separado dos mentaes anteriores. 4 infralabiaes em contacto com os mentaes anteriores que são mais curtos que os posteriores.

Escamas em 15 series. Escudos ventraes 226. Escudo anal dividido. Subcaudaes 22 pares. Corpo avermelhado, com 15 grupos de anneis pretos, dispostos aos tres; o central muito mais largo, separado dos dois marginaes por anneis brancos, sem manchas; os anneis vermelhos que separam os grupos são salpicados de negro na face dorsal e immaculados na face ventral. O grupo anterior é constituido sómente por dois anneis pretos, faltando o primeiro que é reduzido a algumas manchas pretas. A face dorsal da cabeça é, na parte anterior, preta luzidia, com faixa branca semilunar, concava anteriormente, occupando os prefrontaes, o nasal posterior e o segundo supralabial de cada lado, invadindo, em cima, a margem anterior do frontal e a dos internasaes, e, lateralmente, a margem anterior do supraocular, a metade anterior do preocular e a borda anterior do terceiro supralabial. A parte posterior da cabeça é vermelha, com manchinhas negras, das quaes duas maiores no apice dos parietaes. Embaixo, a cabeça é vermelha, salpicada de negro, o symphyseal e o primeiro infralabial tingidos de preto. Um collar estreito, de branco puro, separa a cabeça do corpo. A cauda apresenta a mesma côr que o corpo, com o apice negro.

Comprimento total 670, comprimento da cauda 40 mm.

Esta especie é dedicada ao saudoso Dr. EZEQUIEL DIAS, fundador e ex-director da Filial de Bello Horizonte, onde organizou o serviço de defeza ophidica do Estado de Minas Geraes.

Rhinostoma bimaculatum n. sp.

Dentes maxillares subiguaes, 10 + 2. Dentes mandibulares subiguaes. Olho pequeno. Pupilla vertical, elliptica.

Foucinho curto, de contorno anterior parabolico, obliquamente virado para cima. Face inferior do rostral mais extensa do que a dorsal, que possue uma carena longitudinal obtusa. Internasaes mais largos do que compridos e mais curtos do que os prefrontaes. Comprimento do frontal maior do que a sua largura, igual á sua distancia da extremidade do foucinho e ao comprimento dos parietaes. Frenal ausente. Preocular 1, muito menor do que o supraocular, que é muito estreito e tem um comprimento igual a metade do frontal. Postoculares 2. Temporaes 2 + 2. Supralabiaes 8, o 3º, o 4º e o 5º em contacto com a orbita, o 2º e o 3º com o prefrontal; 4 infralabiaes em contacto com os mentaes anteriores que são tão longos quanto os posteriores. Escamas lisas, com fossetas apicaes, em 19 series longitudinaes. Ventraes 164. Anal inteiro. Subcaudaes 40 pares (os ultimos indistinctos). Cauda afilada.

Corpo avermelhado em cima; atraz do

pescoço ha 2 manchas de 5 mm. de largura por 10 mm. de comprimento, formadas por 4—5 series de escamas ennegrecidas e separadas pela serie mediana dorsal de escamas.

Escamas do dorso com apice infuscado. Ventre, partes lateraes (3—4 series de escamas) e supralabiaes de um branco puro. Cauda da mesma côr que o corpo.

Comprimento total 510 mm. Comprimento da cauda 75 mm.

Procedencia: Pirapora. Pertence á Filial de Bello Horizonte.

Esta especie se distingue facilmente de *R. guianense* e *vittatum* pela ausencia de frenal. E muito proxima de *R. Iglesiasi* da qual se separa por ter 3 supraoculares em contacto com a orbita e 2 temporaes anteriores.

Damos em seguida um quadro dos caracteres differenciaes das 4 especies do genero *Rhinostoma*.

	Iglesiasi	bimaculatum	vittatum	guianense
Rostral	sem carena	com carena	com carena	
Frenal	ausente	ausente	presente	presente
Temporaes	1+2	2+2	2+3	2+3
Ventraes	169	160	199—226	168—209
Internasaes	tão compridos quanto largos	mais largos que compridos		
Frontal	tão comprido quanto largo, mais curta que parietaes	menos largo que comprido, igual aos parietaes		
Preocular	quasi igual ao supraocular	muito menor		
Supraoculares em contacto com a orbita	4o e 5o	3o, 4o e 5o	4o e 5o	4o e 5o
Cabeça	manchada de escuro	não manchada		

Rio de Janeiro, 10 de Novembro de 1922.

Explicação das figuras.

Fig. 1-4—Elaps Ezequieli.
Fig. 1—Aspecto dorsal.
Fig. 2—Aspecto lateral.
Fig. 3—Aspecto ventral.
Fig. 4—Cauda, aspecto ventral.
Fig. 5-7—Rhinostoma bimaculatum.
Fig. 5—Aspecto dorsal.
Fig. 6—Aspecto ventral.
Fig. 7—Aspecto lateral.

BIBLIOGRAPHIA

1) BOULENGER, 1896— Catalogue of Snakes of the British Museum.

2) BOULENGER, 1898— Elaps Rosenbergi, em Proc. Zool. Soc. London, p. 117.

3) BOULENGER, 1902— Elaps Simonsi, em Ann. Mg. Nat. Hist. s. 7, v. 9, p. 338.

4) BOULENGER, 1920— Elaps. omissus, em Ann. Mg. Nat. Hist. s. 9, v. 6, p.198.

5) AMARAL, 1921— Elaps Fischeri, em Annexos Mem. Butantan, v. 1, f. I, p. 15. RR

6) GUENTHER, 1902— Biologia Centrali—Americana.

7) GOMES, FLORENCIO, 1915— Rhinostoma Iglesiasi, em Collectaneas dos Trabalhos de de Butantan de 1901—1917, p. 270.

Estudos sobre os Blastocystis

pelo

DR. HENRIQUE BEAUREPAIRE ARAGÃO

Chefe de serviço.

(Com as estampas 32—33)

A opinião da maioria dos pesquizadores que se têm dedicado ao estudo dos parasitas intestinaes ainda não se fixou completamente no que diz respeito a essas formações de estructura tão curiosa conhecidas pelo nome de *Blastocystis* que lhes foi dado em 1911 por ALEXEIEFF.

Taes parasitas são conhecidos ha muito tempo e têm recebido dos differentes autores que os observaram as mais variadas interpretações. Assim foram elles considerados por uns como fórma de evolução, enkystamento, autogamia e degeneração de diversos flagellados intestinaes como por exemplo *Trichomonas, Bodo, Heteromita,* etc. (PERRONCITO, KUNSTLER,. SCHAUDINN, PROWAZEK, UCKE, CHATTON). Outros os consideram como cogumellos (DOBELL, ALEXEIEFF, BRUMPT,). Num terceiro grupo podemos grupar aquelles que os julgam sem especificidade determinada e provenientes de enkystamento ou degeneração de amebas e outros parasitos das fezes (SWELLENGREBEL, JEPP e DOBELL) e, finalmente ainda ha aquelles que não têm juizo formado a respeito.

De todos estes conceitos o que reune hoje maioria de sufragios e se encontra indubitavelmente destinado a prevalecer é o que considera os *Blastocystis* como seres absolutamente autonomos do reino vegetal, e pertencentes ao grupo dos blastomycetos, com um cyclo todo especial e sem relação alguma com differentes flagellados ou qualquer outro parasita dentre os que se apresentam commumente nas fezes.

Esta opinião foi pela primeira vez, solidamente fundamentada por ALEXEIEFF 1911, baseando-se elle para emittil-a no resultado dos seus estudos nos *Blastocystis* de *Triton marmoratus, Triton cristatus* e de *Salamandra maculosa.*

Os trabalhos de ALEXIEFF, apezar

de muito bem feitos, não lograram a facil confirmação que era de esperar em se tratando de um parasita tão commum, donde resultou permanecer o assumpto um tanto obscuro e impreciso.

Pensamos ser causa disso a relativa raridade das differentes phases de evolução do parasita no material que commumente se tem em observação e ao facto de se estudar mais frequentemente os *Blastocystis* do homem e dos animaes de sangue quente, cuja morphologia e evolução, devido ao meio em que vivem, é menos typica do que as das formas analogas dos animaes de sangue frio.

Assim só poderá fazer um estudo perfeito de taes parasitas quem se dedicar ao exame comparativo de material de differentes animaes de sangue quente e frio, e tiver a felicidade de surprehender certas phases da evolução desses parasitas que só raramente são observados.

Foi graça a um estudo comparativo de material abundante e apropriado que chegámos á verificação dos factos assignalados por ALEXIEFF não só confirmando como completando-os em alguns pontos.

No presente trabalho fazemos um estudo geral dos *Blastocystis* occupando-nos especialmente com a morphologia e evolução dos parasitas encontrados em *Rana esculenta* e por nós de ha muito observados em Munich ao tempo que frequentavamos o Instituto Zoologico sob a sabia direcção de RICHARD HERTWIG.

De então para cá repetidas vezes temos tido occasião de estudar o assumpto que pretendemos esplanar neste e em outro trabalho que completará o presente.

Generalidades.

Os *Blastocystis* são muito communs e ás vezes extremamente abundantes nos animaes parasitados, mas é bastante raro encontrar num mesmo animal todas as suas phases de evolução especialmente as de esporulação.

Estes parasitas vivem no intestino dos animaes, especialmente na porção terminal delle.

É curioso observar a variedade de tamanho que uma mesma forma póde apresentar de accordo com as condições do meio. De um modo geral, os *Blastocystis* se apresentam menores nas fezes solidas do que nas liquidas e tambem de tamanho mais reduzido e com estructura menos typica nos animaes de sangue quente do que nos de sangue frio. Assim as differenças de tamanho observadas e que não raro vão do simples ao duplo e mais, quer no mesmo animal quer de uma especie para outra, não têm, a nosso ver, nenhum valor especifico seguro. Só com um estudo mais aprofundado do assumpto será possivel chegar a uma conclusão definitiva a este respeito.

A nós nos parece que a questão da pluralidade das especies de *Blastocystis* é, por ora, um assumpto para ser decidido após mulhor observação delles. Assim não vemos razão porque admittir, só no homem, 3 especies de *Blastocystis (enterocola, gemmagina* e *sporogina)* como ainda muito recentemente propôe LYNCH, cujo trabalho não nos parece absolutamente convincente.

O estudo dos *Blastocystis* deve ser feito sempre comparando material a fresco com preparações fixados e corados.

O exame a fresco é feito entre lamina e laminula ou, de preferencia, em gotta pendente, a qual tem a vantagem de não causar alteração na morphologia do parasita como sóe acontecer nos preparados pelo primeiro modo acima citado. As preparações coradas devem ser feitas fixando-se em sublimado alcool finos frottis do material e corando-os pela hematoxylina de HEIDENHAIN.

As preparações coradas são as que melhor revelam os delicados detalhes da estructura do parasita. As colorações pela hematoxylina de DELAFIELD e pelo GIEMSA etc., não offerecem melhor resultado do que a de HEIDENHAIN.

Durante muito tempo estiveram adstrictos os parasitologistas ao estudo dos *Blastocystis* no material proveniente directamente de animaes parasitados. Recentemente, porém, devido a BARRET se conseguiram culturas dos *Blastocystis* em meio liquido. O meio usado é constituido por uma solução a 1/2% de sôro humano inactivado em solução physiologica a 5 %. Este meio é collocado em tubos de ensaio estreitos em columna alta, e semeia-se depositando com todo cuidado no fundo do tubo com uma pipeta esterilizada, um pouco de material contendo *Blastocystis*. As culturas são feitas a temperatura do Laboratorio.

A experiencia que fizemos do methodo de BARRET nos confirmou absolutamente a possibilidade de se conseguir culturas de *Blastocystis* ás vezes muito abundantes. Ellas não nos trouxeram porém, até agora, vantagem alguma para o estudo da estructura e evolução do parasita. Nas culturas não se observa absolutamente a transformação do parasita em flagellado de qualquer especie, mas são frequentes nellas formas em degeneração com aspecto atypico lembrando as assignaladas por LYNCH.

E possivel, porém, que as culturas ainda venham fornecer vantagem para os estudos dos *Blastocystis* especialmente no que diz respeito a sua evolução.

Os *Balstocystis* são encontrados nos animaes por elles parasitados em quantidade muito variavel; em caso algum, porém, parecem causar prejuizo ao seu hospedeiro. Elles se tornam ás vezes muito abundantes nos estados diarrheicos e dysentericos, porque o meio então favorece sua proliferação.

Morphologia e evolução dos Blastocytis

As fórmas mais communs, caracteristicas dos *Blastocystis* encontrados nos animaes por elles parasitados são os chamados kystos primarios.

Estes kystos examinados a fresco, em gotta pendente, são esphericos, têm um tamanho muito variavel, pois medem de 6 a 40 micra de diametro, com colorido amarello, ou são de todo incolores.

Os kystos primarios se apresentam constituidos por 3 porções completamente distinctos: a parte interna ou corpo interno de ALEXEIEFF, a camada media ou protoplasmica, e uma orla peripherica, de substancia mucilaginosa.

O corpo interno é constituido por uma porção de substancia homogenea, contendo, ás vezes, massas irregulares de uma substancia intensamente siderophila (Est. 32, Figs. 12 e 12a); supõe-se, pelas reacções microchimicas que essas massas sejam de paraglycogeno. O corpo interno é, em sua maior parte, constituido por substancia de natureza glycogenica com funcção de material de reserva destinado ás phases ulteriores da evolução dos *Blastocystis*, especialmente na occasião da formação dos kystos secundarios.

O corpo interno é normalmente incolor, porém, ás vezes póde apresentar tons amarellados ou mesmo esverdeados.

Nas preparações pelo HEIDENHAIN, o corpo interno se côra mais ou menos intensamente com um tom cinzento; ás vezes, porém, elle retem fortemente o corante e se apresenta ennegrecido. As massas de paraglycogeno, que se observam no corpo interno dos *Blastocystis* são sempre muito siderophilas e, por isso, sobresahem facilmente nos preparados (Est. 32, Figs. 12 e 12a, e Est. 33, Figs. 15, 18 e 20).

O corpo interno é cercado por uma delgada orla de protoplasma, de es-

tructura finamente alveolar, mais espessa em alguns pontos do que em outros, especialmente naquelles em que se acham os nucleos. No protoplasma se veem granulações de volutina. A camada de protoplasma se adapta perfeitamente ao corpo interno, e só raramente (Est. 32, fig. 12a) se vê o corpo interno retrahido no interior do seu envoltorio protoplasmatico.

Os nucleos nos *Blastocystis,* cujo numero vae de 1 a 32, se encontram sempre na camada protoplasmatica da cellula, ora aproximados dous a dous, ora collocados me pontos oppostos ou então disseminados por toda a superficie do parasita, quando são muito numerosos.

A estructura do nucleo dos *Blastocystis,* é muito caracteristica, como já assignalou ALEXEIEFF; elles são constituidos por uma pequena colote de chromatina compacta excentricamente collocada e separada, por uma zona clara, do resto da substancia nuclear, menos densa menos coravel e mais abundante que a anterior. O nucleo não possue membrana e se acha collocado numa zona mais clara do protoplasma; elle muito mais se aproxima por seu aspecto e estructura dos nucleos dos cogumelles de que do de qualquer protozoario do grupo dos flagellados.

Cercando a camada de protoplasma dos *Blastocysits,* se póde perceber, a fresco, uma zona de substancia mucillaginosa. Este halo de substancia mucillaginosa e hyalina que cerca os *Blastocystis,* não póde ser corada, mas se deixa perceber a fresco pelo limite que estabelece entre os *Blastocystis* e o material em suspensão no liquido em torno das cellulas do parasita. As vezes mesmo, nas preparações coradas esta zona hyalina de substancias mucillaginosa reve la sua existencia por uma orla completamente descorada em torno aos *Blastocystis.* Esta zona de substancia mucillaginosa, encontrada nos *Blastocystis,* já têm sido igualmente verificada em outros cogumelos, especialmente nos adaptados á vida parasitaria, como por exemplo o *Saccharomyces tumefaciens albus* e outros.

As 3 partes constitutivas de kystos primarios se encontram sempre presentes nelles (Est. 32, Fig. 2—12), apenas as primeiras phases da evolução dos kystos primarios (Est. 32, Fig. 1) se apresentam desprovidas de corpo interno, por não haver ainda se dado o accumulo da substancia de reserva, que constitue aquella estructura do *Blastocystis.*

Divisão do blastocystis.
(Plasmotomia)

Na divisão dos kystos primarios dos *Blastocystis* ha a considerar a da cellula e a dos nucleos. A divisão cellular se dá por um processo de plasmatomia, já assignalada por diversos autores e que foi interpretada de modo vario. Alguns pesquizadores acreditam que ella seja a unica fórma de divisão dos *Blastocystis* e, de facto, é a mais commumente observada.

O processo plasmasmotomico é constituido por uma divisão binaria, ás vezes um tanto desigual, do *Blastocystis.* O processo se inicia, assumindo a cellula uma fórma de ellipse (Est. 32, Fig. 5 e 11), o qual se vae tornando cada vez mais alongada. Não demora a apparecer na parte mediana um pequeno estreitamento, que aos poucos vae se accentuando e, afinal, acarreta um completo estrangulamento do protoplasma e do corpo interno. Separam-se desta fórma dois novos *Blastocystis* reconstituindo-se logo, em cada um, as porções alteradas pelo processo plasmatomico, e apresentando elles afinal o aspecto typico do parasita,

Não se deve confundir com o processo de plasmatomia, acima mencionado, as deformações, que soffre o corpo do *Blastocystis* sob a influencia de

compressões variadas, especialmente as que se produzem nas preparações entre lamina e laminula.

Ainda permanece obscura a significação do processo de divisão plasmatomica dos *Blastocystis*. Não é impossivel que elle esteja em relação com algum phenomeno sexuado, que se passe na cellula, como pensa ALEXEIEFF, mas não ha ainda elementos para um juizo seguro a respeito.

As fórmas plasmatomicas ora são escassas, ora abundantes no material que se examina. A divisão plasmatomica tem logar em geral nos kystos com 2 e 4 nucleos, estes porém, não soffrem nenhuma modificação, nem parecem tomar outra parte no processo, apenas passam em numero igual para cada um dos novos *Blastocystis*, ao se concluir o processo plasmatomico.

Divisão nuclear.

A divisão nuclear nos *Blastocystis* se inicia logo nas primeiras phases de vegetação do esporo e se continua até que se inicia a phase de esporulação do parasita. Assim é raro se encontrar um *Blastocystis* com um só nucleo, pois o nucleo inicial delles (Est. 32, Fig. 1 e 2), logo se divide e ulteriormente se subdivide repetidas vezes dando não raro fórmas com 8, 16 e 32 nucleos.

O processo de divisão nuclear dos *Blastocystis* é bastante simples. Elle se inicia pelo alongamento da calote chromatica do nucleo (Est. 32, Fig. 9), que toma a fórma de um pequeno bastonete ligeiramente curvo. Ao mesmo tempo que se alonga a substancia chromatica densa do nucleo, a porção menos coravel delle se distende egualmente formando um pequeno arco de abertura opposta ao primeiro, Em seguida dá-se a divisão da substancia chromatica densa, cujos elementos vão formar duas pequenas calotes oppostas, colocando-se entre ellas a fracção menos coravel do nucleo (Est. 32, Fig. 9a).

Em phase mais adiantada do processo, esta substancia menos coravel do nucleo se divide, aproximando-se da metade da calote chromatica que lhe está mais proxima (Est. 32, Fig. 8) em breve dous novos nucleos estão perfeitamente reconstituidos (Est. 32, Fig. 9 e 10).

As differentes phases de divisão, acima descriptas, são perfeitamente visiveis na primeira segmentação nuclear, mas se tornam menos apreciaveis nas demais (Est. 32, Fig. 12a), devido ao tamanho cada vez menor elementos. A proporção que se multiplicam os nucleos tambem aumenta de tamanho o *Blastocystis* principalmente por accrescimo da substancia de reserva do corpo interno. As divisões nucleares elevam não raro o nucleo de nucleos do *Blastocystis* 16 e 32, cada um dos quaes fará ulteriormente parte de um kysto secundario, cujo modo de formação vamos passar a estudar.

Um dos processos mais interessantes e mais raros na evolução dos *Blastocystis* é a formação dos kystos secundarios pelos phenomenos cellulares e nucleares, que então se observam. O processo de formação destes kystos póde ser perfeitamente comparado ao de esporulação de certos saccharomycetos.

Si bem que seja rara, a formação dos kystos secundarios, quando ella, no entanto, se dá, ocorre em massa no material, o que permitte, em taes condições, a observação de todas as suas phases sem grande difficuldade, tanto a fresco como nas preparações fixadas e coradas.

Os phenomenos de formação dos kystos secundarios se iniciam pela multiplicação nuclear dos *Blastocystis*, e tem logar em parasitas com 8 a 32 nucleos, e cujo tamanho é proporcional ao numero de elementos nelle existentes. Estes nucleos se acham então mais ou menos

regularmente distribuidos no protoplasma do *Blastocystis*. A seguir se observa que em torno a cada nucleo vão surgindo, no protoplasma da cellula, até então homogeneo, pequenas granulações, seguramente formadas á custa de material forneçido pelo corpo interno que então começa a se rarefazer (Est. 33, Fig. 15).

Não parecem taes corpusculos se originar dos nucleos da cellula, como se fossem verdadeiras mitochondrias; antes os nucleos funccionam no seu apparecimento como centros de attracção. O numero de granulos, que se accumulam em torno de cada nucleo é muito variavel, como se póde ver pelos desenhos apresentados (Est. 33, Figs. 15 e 16). O apparecimento destas granulações no protoplasma dos *Blastocystis* marca o inicio da constituição dos kystos secundarios, pois logo após a sua presença ser constatada, nota-se que o protoplasma do *Blastocystis* até então unido, começa a se isolar sob a forma de massa polygonaes (Est. 32, Fig. 16), contendo cada uma um nucleo e um numero variavel de granulações. O corpo interno já se acha então quasi completamente rarefeito, como se a sua substancia, sob a fórma das granulações, acima mencionadas, se tivesse passado para as ilhas de protoplasma que se formaram na superficie do *Blastocystis*.

Estas ilhas de protoplasma não tardam a perder o seu aspecto polygonal, do começo, e se arredondam, ficando completamente isoladas umas das outras. O aspecto dessas ilhas de protoplasma é então muito caracteristicos; ellas apresentam no centro um nucleo e granulações *(mitochondrias*, segundo ALEXEIEFF) em numero variavel, collocadas periphericamente nas malhas de um fino reticulo. Com o desapparecimento da substancia, que constituia o, corpo interno, que na occasião é completa, a cellula torna-se flacida, deforma-se, e apresenta um aspecto mamemmelonado, como se nella houvesse um processo de gemmulação (Est. 33, Figs. 20 e 21). Em um periodo mais adiantado os kystos se individualisam completamente; as granulações se applicam na peripheria delles transformando-se então em pequenos bastonetes, e formando-se uma membrana. Estes pequenos kystos secundarios ficam completamente isolados e apenas mantidos ao começo no interior de um delgado sacco membranoso, ultimo residuo da delicada membrana do *Blastocystis* primitivo. (Est. 33, Figs. 26 e 27). Rompendo-se esta membrana, que envolve os hystos secundarios, elles ficam completamente livres no meio, ora isolados ora em pequenos grupos. (Est. 33, Figs. 23 e 24).

Os kystos secundarios definitivamente constituidos medem 5 a 6 de diametro são menores e têm menos granulações que antes de completamente formados.

O nucleo em alguns permanece com o seu aspecto typico, em outros fragmenta-se, e, provavelmente a cellula degenera. (Est. 33, Fig. 22).

A formação dos kystos secundarios se processa segundo ALEXEIEFFF em 10 a 17 minutos, mas nós nunca conseguimos vel-a em tão pouco tempo.

Os kystos secundarios são fórmas de resistencia dos *Blastocystis* e se constituem como acabamos de ver, por um processo analogo ao da constituição dos ascoporos de certos schizosaccharomycetos *(Schizosaccharomyces octosporus)*. A membrana hyalina, que, elles possuem e que nas preparações coradas em geral não é visivel, os protege, no meio ambiente, quando sahem do intestino do animal parasitado.

WENYON e O'CONNER viram uma unica vez, no homem, uma fórma de divisão multipla de *Blastocystis*, a qual, porém, nada tem de semelhante com o processo, acima mencionado, pois na reproducção graphica da fórma vista mostram os autores inglezes um kysto cheio

de pequenos kystos primarios, todos com seu corpo interno e tendo diversos nucleos, o que não reproduz a forma classica de esporulação do *Blastocystis*. As fórmas de esporulação, mencionadas e desenhadas por LYNCH, não parecem ter tambem uma significação muito precisa. assim como as descriptas por FLU e que se assemelham mais a kystos primarios degenerados e mal fixados do que a verdadeiras fórmas de esporulação dos *Blastocystis*.

A evolução ulterior dos kystos secundarios não tem sido seguida com facilidade. O exame do nosso material nos leva a acreditar que no proprio intestino do animal parasitado ou de outro indemne que os ingira elles de novo se transformam em kystos primarios.

Essa transformação occorre soffrendo o kysto secundario as seguintes modificações; ha absorpção e desapparecimento dos granulos e reticulos exsitentes no esporo que se torna então homogeneo com um só nucleo e com a membrana hyalina visivel (Est. 32, Fig. 1). Nesta phase o kysto augmenta sensivelmente de volume. Em phase mais adiantada da evolução começa a formação do corpo interno e então o *Blastocystis* novo já se apresenta com o protoplasma a delgaçado e com o aspecto proprio de um kysto primario, mas ainda uninucleado (Est. 32, Fig. 2).

Não tarda a se dividir o nucleo da fórma anterior (Est. 32, Fig. 3) dando-se a migração desses elementos para polos oppostos (Est. 32, Fig. 3 e 4) do *Blastocystis* e assim apparecem as fórmas mais caracteristicas do parasita, os kystos primarios completamente constituidos.

A evolução dos *Blastocystis*, tal como a acabamos de descrever, é aquella que nós parece ser verdadeira, e está de accordo com os factos assignados, com tanta precisão, por ALEXEIEFF. Nenhuma phase flagellada intervem neste cyclo sendo nossa opinião que os autores, que as tem visto, hajam incorrido em erro pela cocomitancia de parasitas diversos no material, ou talvez haver uma infestação do *Blastocystis* por um flagellado parasita que lhe seja proprio, como a nosso ver parece ter succedido a algum dos autores que têm descripto phases flagelladas na evolução dos *Blastocystis*.

Tambem não se póde deixar de achar uma certa semelhança entre as differentes phases de formação de kystos secundarios e o processo de multiplicação da *Endameba histolitica*, descripto por SCHAUDINN em seu memoravel trabalho sobre as amebas pathogenicas do homem, sendo o processo de gemmulação desse parasita bem semelhante ao da formação de esporos nos *Blastocystis* e os pequenos kystos daquella Endameba comparaveis aos esporos deste parasita.

O facto de viverem os *Blastocystis* geralmente em companhia de muito outros protozoarios e vegetaes inferiores no intestino dos animaes, por elles parasitados, difficulta muito sua observação, e facilita a confusão, em que tão frequentemente têm cahido os autores que os tem estudado. Tambem muito concorre para difficultar o assumpto o facto da evolução se fazer muito irregularmente nos differentes animaes, e della só raramente se encontrarem as phases tão interessantes da esporulação.

Conclusões.

1º

Os *Blastocystis*, encontrados nos differentes animaes de sangue quente e frio não são fórmas de evolução de flagellados destes seres, nem de qualquer outro parasita vegetal ou animal existentes no intestino.

2º

Os *Blastocystis* são vegetaes diffe-

renciados pelo parasitismo, mais proximos a certos blastomycetos e especialmente aos saccharomycetos pathogenicos.

3º

A multiplicação dos *Blastocystis* se dá por dous procesos differentes: um de plasmatomia que tem logar nos kystos primarios, e outro, de esporogonia no interior de uma especie de ascoporo, do qual resulta a formação de fórmas de resistencia do parasita. É possivel que antes de se iniciar a phase de esporulação occoram no *Blastocystis* phenomenos sexuaes, semelhantes aos que se conhecem nos saccharomycetos.

4º

Tanto quanto os conhecimentos da morphologia e biologia do parasita o permittem affirmar, não parece muito bem estabelecida a existencia de multiplas especies de *Blastocystis*.

5º

Os *Blastocystis* não exercem acção pathogenica evidente sobre os organismos, por elles parasitados, e no homem não se nota relação alguma entre a sua presença e qualquer estado morbido.

Esplicações das estampas.

Desenhos feitos com a camara clara a allura da platina do Microscopio sendo usados a objec dimmersão homogenea de 2 mm.; e a ocular compensadora 12. Comprimento do Tubo 16 mm.

Fig. 1. Fórma inicial de evolução de um kysto primario sem vocuolo.

Fig. 2. Kysto primario com um só nucleo e vacuolo.

Figs. 3—10. Differentes estadios de evolução de kystos primarios.

Fig. 11. Kysto primario em phase de plasmatomia.

Fig. 12. Kysto primario com massa siderophila no seu interior.

Figs. 12a e 13. Kystos primarios com muitos nucleos em phase anterior a formação de kystos secundarios.

Fig. 14. Kystos primarios com 12 nucleos espalhados pelo protoplasma.

Fig. 15. Inicio da formação dos kystos secundarios. Apparecimento das granulações no proloplasma em torno dos nucleos.

Figs. 16—22. Differentes phases da formação dos kystos secundarios desde o apparecimento dos primeiros esboços da segmentação do protoplasma até a constituição dos kystos definitivos.

Fig. 23 e 24. Kystos secundarios completamente constituidos e isolados.

Bibliographia.

ALEXEIEFF, A. 1909 Les flagelés parasites de l'intestin des batraciens indigènes. C. R. Soc. Biol. T. 63.

ALEXEIEFF, A. 1910 Kystes intestinaux des batrachiens Bull. scient. France & Belgique T. 44.

ALEXEIEFF, A. 1911 Sur la nature les formations dites «kystes de Trychomonas intestinalis» C. R. Soc. Biol. Année 63, Vol. 2 p. 296.

ALEXEIEFF, A. 1916 Mitochondries chez quelques protistes. C. R. Soc. Biol. Vol. 79 p. 1076.

BARRET, H. P. 1921 A method for tho cultivation of Blastocystes. Ann. of trop. Med. & Parasit. Vol. 15 N°. 2 p. 113.

BENSEN, W. 1909 Untersuchongen ueb. Trichomonas intestinalis und vaginalis des Menschen Arch. f. Protistenk Vol. 18.

BOHNE & PROWAZEK, S. 1908 Zur Frage der Flagellatendysenterie. Arch. f. Protistenkunde Vol. 12.

BRUMPT, E. 1912 Côlite à Tetramitus Mesnili (Wenyon 1910) et côlite à Trichomonas intestinalis Leuckart 1879.—Blastocystis hominis n. sp. et formes voisines. Bull. Soc. Pathol. exot. Vol. 5 p. 725.

CHATTON, E. 1917 Les Blastocystis, stades du cycle évolutif des flagellés intestinaux. C. R. Soc. Biologie. Vol. 80 p. 555.

CURTIS, F. 1896 Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine. Annales Inst. Pasteur p. 449.

DOBELL, 1908 Some remarks upon the autogamy of Bodo Lacertaes. Biolog. Zentralbl. Bd. 28 N°. 17.

FONSECA filho, O. 1915 Estudos sobre os flagellados parasitas These Fac. Med. Rio de Janeiro.

JEFFIS & DOBELL 1918 Dientameba fragilis n. g. n. sp., a new intestinal ameba of man Parasitology, Vol. 10 p. 352.

LYNCH, K. M. 1917 *Blastocystis hominis;* its characteristics and its prevalence in intestinal content and faeces in Sputh Carolina. Journ. of Bacteriologi Vol. II p. 369.

LYNCH, K. 1922 Blastocystis species in culture. A preliminary communication. Amer. Journ. of trop. Med. Vol. 2 N°. 3 p. 215.

PROWAZECK, S. v. 1904 Untersuchungen ueb. einige parasitische Flagellaten. Arb. Ksl. Gesundheitsamte Bd. 21.

SCHAUDINN, F. 1903 Untersichungen ueb. die Foortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. Ksl. Gesundheitsamte Bd. 19.

SWELLENGREBEL, N. H. 1917 Observations on Blastocystis hominis. Parasitology Vol. 9 p. 451.

UCKE	1907	Trichomonaden u. Megostomen des Menschendarmes. Centralbl. Bakt. Orig. Bd. 45 p. 231.
WENYON, G. M.	1910	A new flagellate from the human intestine, with some remarks on the supposed cyst of Trichomonas. Parasitology, Vol. 3.
WENYON, C. M. & O'CONNOR	1917	Human intestinal protozoa in the Near East. Wellcome Bureau of scient. Res. L.
WENYON, C. M.	1920	Observations on the intestinal protozoa of three Egyptian lisards, with a note on a cell invading fungus. Parasitology. Vol. 12 p. 350.

Syphilis das glandulas supra-renaes

por

C. BURLE DE FIGUEIREDO

(Com as estampas 34—39.)

As lesões histopathologicas de syphilis nas glandulas supra renaes, vêm sendo desde algum tempo objecto de especiaes estudos e referencias da literatura sobre o assumpto.

Ultimamente o professor SIMMOND, de Hamburgo, e ALDRED SCOTT, professor da Universidade de Michigan, o primeiro em seus trabalhos sobre a syphilis congenita das glandulas supra-renaes e o ultimo estudando a syphilis em suas manifestações nos diversos orgãos, offereceram-nos observações mais detalhadas sobre a materia, calcadas sobre estudos anteriores que ainda não haviam conseguido ordenar uma serie de conclusões apreciaveis. SIMMOND, (1) descrevendo as lesões caracteristicas da syphilis congenita das glandulas supra-renaes, estabeleceu como lesão pathognomonica o espessamento da capsula, ao que denominou de perihypernephrite syphilitica, observada em todos os casos por elle estudados em numero de 18; além disso, accusou a verificação de infiltrações lymphocytarias da camada cortical, manifestação que elle considera não como primitiva do processo pathogenico, mas como uma propagação do processo da capsula.

Em 1916, ALDRED SCOTT (2) publicou um artigo sobre « The persistence of active lesions and spirochetes in the tissues of clinically inactive or cured syphilis » accusando em suas observações dentre 41 autopsias estudadas, 6 casos de lesões syphiliticas das glandulas supra renaes por elle collocadas em quarto logar na escala que estabelece dos orgãos mais frequentemente sédes dessas lesões (aorta, coração, testiculo, glandulas supra renaes, systema nervoso central, figado e baço) e onde encontrou infiltrações mononucleares na porção me-

1—Virchow's Archiv, 1914, Bd 216.

2—The American Journal of Medical Sciences, 1916, v. 152.

dullar ou nos limites da cortex e medulla com a presença de spirochetas nesas areas infiltradas. Dous annos após em 1918, voltou novamente SCOTT (3) ao assumpto, publicando um artigo original, sob o titulo « The new pathology of syphilis », dedicando uma pagina ás glandulas supra renaes, cujas lesões descreveu com maior desenvolvimento, illustrando-a com uma microphotographia em apoio de suas anteriores observações.

Identicas verificações já haviam sido feitas aliás anteriormente não só por FORDYCE (4) o qual observou que em todos os orgãos as lesões se iniciam nos espaços lymphaticos perivasculares sob a forma de infiltrações lymphocytarias e de cellulas plasmaticas, como ainda, por VON GIERKE que descreve um caso de infiltração medullar com infiltração perivascular, forte alteração da camada cortical e alteração inflammatoria da capsula.

As observações e dados que a seguir, se encontram neste nosso trabalho, foram colhidas na secção de Anatomia Pathologica do Instituto.

Referem-se a 90 autopsias procedidas em individuos syphiliticos, cujo diagnostico foi feito, não só macroscopicamente, como tambem pela verificação histologica, tendo sido nesse numero reconhecidas lesadas 75 glandulas supra-renaes, de accordo com as descripções por todos os autores admittidas como especificas. As lesões por nós encontradas foram as seguintes:

1) Infiltrações lymphocytarias e de cellulas plasmaticas 63 %, com localisações as mais das vezes perivasculares dentro ou fóra da capsula e com menor frequencia na camada cortical ou mesmo disseminadamente. Veja figs. 1—6.

II) Espessamento da capsula 31 %, com infiltrações pericapsulares. Veja fig. 7.

III) Fibroses circumscriptas 3,3% Veja figs. 8 e 9. (veja nota 1).

Não verificamos em nenhum caso gommas miliares ou cacificadas com cellulas gigantes, atrophias da capsula ou simples proliferação de fibroblastos, manifestações essas que aliás os autores apontam como raras. Tivemos entretanto a opportunidade de confirmar a observação de SCOTT relativa a presença de spirochetas nas zonas de infiltração lymphocytaria disseminada, como se póde verificar nas figs. 10 e 11 (da autopsia 1457, figs. 6 e 5) que reproduzem córtes de uma das glandulas supra renaes das mais extensamente lesadas, impregnadas pelo processo de LEVADITI.

Não dispondo de dados clinicos dos casos que se offereceram ao nosso exame anatomo-pathologico, não nos foi possivel estabelecer uma relação entre as lesões encontradas e os symptomas clinicos que porventura pudessem ser verificados. E' certo que só muito raramente se exteriorisam por symptomas clinicos as lesões de qualquer etiologia com séde nas glandulas supra renaes, (syndrome de ADDISON) (5) manifestações de lesões extensas e bilateraes que muito poucas vezes se observam; ainda mais raros são pois os casos cuja cura a literatura sobre o assumpto nos transmitte, como obtida pelo tratamento especifico da syphilis; a nosso ver entretanto a ve-

(3)—The American Journal of Syphilis, 1918.

(4)—Fordyce, Amer. Journ. of Med. Sciences, v. 149, 1915.

(5)—Além dessas lesões syphiliticas acima apontadas notamos com adenomas 20 capsulas, com lipoidose da cortex 19, tuberculose 1, tumor maligno 1, hemorrhagia 2, hyperaemia 11.

1—Virchow's Archiv. B. 172, 1903.

Beiträge zur Patholog, Anatomie und zur Allg. Pathologie Bd. 62, 1916.

Annales de Dermat. et de Syphiligraphie, 1905, 638, 212.

Annales des Maladies Vénériennes, 1911, 320.

Gazette de Ho. 1317, 1914.

New York Medical ournal 1916.

rificação histologica das lesões de origem syphilitica ali localisadas, não constitue simplesmente uma curiosidade anatomica, mas um subsidio valioso para o diagnostico anatomo-pathologico da syphilis, pois que por si só é sufficiente para caracterisal-o sendo que a frequencia dessas lesões por nós observadas como resultante da avaria, numa proporção de 83 %, vem realçar o valor incontestavel de sua significação. Passamos a descrever cada uma das observações colhidas, e onde se encontrará feita a verificação histologica da syphilis nos diversos orgãos e com particularidade a descripção das lesões de qualquer natureza encontradas nas glandulas suprarenaes.

Autopsia nº. 1005.
Sexo: Masculino.
Idade: 27 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Encephalitis syphilitica hemispherii sinistri. Cicatrix penis. Hyperaemia hepatis et partium inferiorum pulmonum. Perisplenitis et atrophia lienis. Varus equinus.

Verificação histologica de syphilis: Cerebro. Glandula-suprarenal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1011.
Sexo: Masculino.
Idade: 53 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Atrophia et dilatatio ventriculi et auriculae utriusque. Sclerosis valvulae aorticae. Leishmaniosis nasis. Cicatrix cutis mucosae nasi et penis. Leucoma. Petechiae intestini tenuis submucosae. Nephritis chronica. Ankylostomiasis. Aortitis. Syphilis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, endocardio, nariz e glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas na porção mais interna da cortex. Infiltração perivascular. Thrombose.

Autopsia nº. 1115.
Sexo: Masculino.
Idade: 32 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Mesaortitis luetica. Sclerosis valvularum aortae. Dilatatio ventriculi utriusque. Hypertrophia ventriculi dextri. Haemorrhagiae epicardii pleurae et nodorum peribronchialium. Infarctus pulmonis. Hydrothorax dexter. Hyperaemia renum et hepatis. Hyperplasia nod. lymph. intestini tenuis. Taenia. Leptomeningitis chronica luetica. Encephalomalacia.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, endocardio, ganglios lymphaticos, cerebro, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular. Adenomas da capsula Hyperaemia. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1123.
Sexo: Masculino.
Idade 64 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Encephalomalacia cystica cerebri. Mesaortitis luetica. Contraturae musculorum. Cicatrices cutaneae. Decubitus. Fibrosis testis dextri. Atrophia cordis. Nephritis chronica interstitialis. Hyperaemia et atrophia hepatis. Hypostasis et oedema pulmonis. Pleuritis et pericarditis chronica adhesiva. Cystitis chronica ulcerativa. Thrombosis sinus meningis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, testiculo, cerebro e glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas diversamente distribuidas, perivascular, camada interna da cortex e tecido conjunctivo fóra da capsula da glandula. Espessamento da capsula. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1131.
Sexo: Feminino.
Idade: 30 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Salpingo-oophoritis purulenta acuta dupla. Perimetritis chronica. Peritonitis fibrino purulenta. Anaemia. Aortitis luetica (gumma). Pleuritis adhesiva chronica. Perisplenitis chronica. Degeneratio acuta hepatis et rerum. Cicatrices cruris. Tricocephaliasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas perivascular. Fibrose perivascular ligeira. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1132.
Sexo: Masculino.
Idade:
Nacionalidade:

Diagnostico anatomico: Malaria. Hyperplasia et pigmentatio lienis. Pigmentatio hepatis. Tuberculosis chronica peribronchialis pulmonum. Degeneratio renum. Sclerosis aortae (syphilis). Cicatrices cutanea, penis et cruris (syphilis). Alopoecia (syphilis). Ankylostomiasis. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, glandula, supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas perivascular fóra da capsula e camada cortical. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1150.
Sexo: Masculino.
Idade: 32 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Pneumonia crouposa. Bronchopneumonia. Mesaortitis syphilitica. Hepatomegalia. Splenomegalia. Ascites. Nephritis chronica parenchymatosa. Ankylostomiasis. Syphilis.

Verificação histologica de syphilis: Figado, aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1158.
Sexo: Masculino.
Idade: 43 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Fractura femoris. Osteomyelitis chronica suppurativa femoris. Nephritis acuta parenchymatosa. Enterocolitis acuta fibrinosa. Hyperaemia hepatis. Tumor (fibroma) peritonei. Lingua glabra. Hyperplasia lienis. Arteriosclerosis. Sclerosis arteriae lienis. Ankylostomiasis. Trichuriasis.

Verificação histologica de syphilis: Lingua, rins, glandula supra-renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular.

Autopsia nº. 1166.
Sexo: Masculino.
Idade: 70 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Mesaortitis syphilitica. Aneurysma aortae descendentis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Cicatrix myocardii et endocardii. Perisplenitis chronica. Emphysaema pulmonum. Fibrosis lienis. Atrophia renum. Nodulae intestini tenuis et crassi.

Verificação histologica de syphilis: Aorta (aneurisma), endocardio, myocardio.

Galndula supra renal: Lipoidose cortex.

Autopsia nº. 1186.
Sexo: Masculino.
Idade: 43 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Endocarditis chronica et acuta destruens valvulae aortae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia et oedema pulmonum. Hydrothorax. Hepatitis chronica interstitialis. Hyperaemia et infarctus lienis. Cicatrices et infarctus, renum. Haemorrhagiae

mucosae intestini et cutis. Cicatrix penis. Ankylostomiasis.

Verificação histologica de syphilis: Figado, penis, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria, perivascular central. Adenomas da capsula.

Autopsia nº. 1196.
Sexo: Masculino.
Idade. 30 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Aneurisma arcus aortae. Erosio tracheae. Aortitis syphilitica. Haemorrhagia et infarctus pulmonum. Hyperaemia lienis renum et meningium. Noduli jejuni. Synechiae pleurae. Hyperaemia et infarctus hepatis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular.

Autopsia nº. 1203.
Sexo: Masculino.
Idade: 60 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostioc anatomico: Carcinoma ventriculi. Tuberculosis chronica fibrosa pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva. Lymphadenitis tuberculosa cervicalis, peritrachealis et peribronchialis. Tuberculosis glandularum suprarenalium. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Aortitis syphilitica. Atrophia fusca cordis. Sclerosis vasorum coronarium. Perisplenitis chronica. Gumma hepatis. Tuberculosis hepatis. Nephritis chronica interstitialis. Oedema meningium. Ulcera crurum.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, aorta, figado.

Autopsia nº. 1210.
Sexo: Masculino,
Idade: 45 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Anaemia gravis. Ankylostomiasis degeneratio adiposa cordis. Dilatatio ventriculi utriusque. Oedema pulmonum. Hydrothorax duplus Tuberculosis circumscripta pulmonis et pleurae. Degeneratio adiposa renum. Hyperaemia hepatis degeneratio adiposa. Anaemia. cerebri et meningium. Oedema Oedema crurum. Medulla ossea adiposa. Perforatio saeptinasi. Cryptorchidismus unilateralis.

Verificação histologica de syphilis: Glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria na porção mais interna da cortex. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1217.
Sexo: Masculino:
Idade: 57 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi utriusque. Dilatatio ventriculi dextri. Fibrosis myocardii. Calcificatio valvularum aortae et mitralis. Calcificatio endocardii ventriculi sinistri. Atheroma aortae. Atrophia fusca hepatis. Fibrosis lienis. Perisplenitis chronica. Synechiae pericardii. Hydrothorax dextrus. Atelectaria pulmonis dextri. Cicatrices crurum. Hydroperitoneum. Petechiae epicardii et mucosae intestini. Gastritis hypertrophica. Ascariasis.

Autopsia nº. 1227.
Sexo: Masculino.
Idade: 36 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Aneurisma arcus aortae. Mesaortitis chronica (syphilis). Synechiae pericardii. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Hypertrophia ventriculi sinistri. Oedema, hyperaemia et atelectasia pulmonis sinistri. Oedema, hyperaemia et emphysaema pulmonis dextri. Hyperaemia chronica hepatis. Hyperplasia chronica lienis. Perisplenitis chronica. Degeneratio adiposa et hyperaemia renum. Hernia intestini tenuis in omentum minus. Hydroperitoneum. Hydrothorax sinister. Ankylostomiasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra rneal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular central.

Autopsia nº. 1246.
Sexo: Masculino.
Idade: 50 annos.
Nacionalidade: Italiana.

Dignostico anatomico: Syphilis. Nephritis interstitialis chronica. Hypertrophia et dilatatio ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri. Degeneratio adiposa myocardii. Aortitis levis. Oedema et hyperaemia pulmonis utriusque. Pneumonia crouposa lobi medii pulmonis dextri. Oedema meningium. Pleuritis chronica adhesiva. Hyperplasia et fibrosis lienis. Degeneratio parenchymatosa acuta et adiposa hepatis. Hydrothorax sinister. Ulcera crurum. Lymphadenitis chronica inguinalis et iliaca sinistra.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, rins, myocardio, ganglios lymphaticos, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas perivascular. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1247.
Sexo: Masculino.
Idade: 48 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Syphilis Nephritis diffusa chronica. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Hypertrophia ventriculi sinistri. Myomalacia. Hydrothorax duplus. Oedema pulmonum. Atelectasia et hyperaemia lobi inferioris pulmonis sinistri. Lingua glabra. Pachymeningitis haemorrhagica interna sinistra. Encephalomalacia circumscripta. Hernia inguinalis dextra. Phymosis. Balanitis suppurativa. Ulcera cutanea. Degeneratio hepatis.

Verificação histologica de syphilis: Lingua, pelle, rins, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1258.
Sexo: Masculino.
Idade: 36 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Aneurysma arteriae coroniae anterioris. Arteritis syphilitica aortae et arteriae coronariae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio auriculae sinistrae. Balanitis ulcerativa. Cicatrices crurum. Hyperaemia chronica pulmonum, lienis, hepatis et renum. Necrosis mucosae intestini crassi Petechiae endocardii et mucosae gastricae. Pleuritis chronica dextra. Hydroperitoneum. Hydropericardium. Hydrothorax.

Verificação histologica de syphilis: aorta, pelle, penis, intestino e glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas pevascular central. Hyperaemia.

Autopsia nº. 1263.
Sexo: Masculino.
Idade: 42 annos.
Idade: 42 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Hypertrophia et dilatatio ventriculi utriusque. Pleuritis chronica dextra. Hyperaemia chronica hepatis, lienis et renum. Degeneratio adiposa hepatis et myocardii. Perisplenitis chronica. Prostatitis chronica. Hydroperitoneum. Hydrothorax dexter. Cicatrices crurum. Phymosis. Ulcus penis. Infarctus pulmonis dextri.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, penis, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas, perivascular central. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1276.
Sexo: Masculino.
Idade: 35 annos.

Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Hepatitis chronica interstitialis (syphilitica). Hyperplasia lienis. Perisplenitis chronica. Hydroperitoneum. Fibrosis et atrophia myocardii. Fibrosis testis. Lymphadenitis chronica perigastrica, peripancreatica, lumbaris et hepatica. Fibrosis pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Icterus. Cicatrices crurum. Ankylostomiasis. Hyperaemia chronica renum. Anomalia arteriae coronariae sinistrae.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, figado, ganglios lymphaticos, testiculos, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular, camada medullar e fóra da capsula. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1290.
Sexo: Masculino.
Idade: 23 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Malaria. Hyperplasia et pigmentatio lienis. Pigmentatio hepatis. Hyperaemia pulmonum Pleuritis chronica adhesiva dextra. Gumma testis sinistri. Fibrosis testis dextri. Cicatrix penis. Decubitus. Cadaver putrefactum. Ankylostomiasis.

Verificação histologica de syphilis: Penis, testiculo, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento capsula. Adenoma.

Autopsia nº. 1296.
Sexo: Masculino.
Idade: 30 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi utriusque. Dilatatio ventriculi sinistri. Oedema et emphysaema pulmonum. Hydroperituneum. Hydrothorax duplus. Fibrosis myocardii. Atrophia fusca hepatis. Atrophia lienis. Fibrosis testis. Oedema, hyperaemia et petechiae mucosae intestini. Oedema levis meningium. Ankylostomiasis. Diverticulum intestini (Meckel). Anasarca. Cicatrices cutaneae. Papilloma renis.

Verificação histologica de syphilis: Rim, glandulas supra renaes.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria na camada cortical.

Autopsia nº. 1305.
Sexo: Masculino.
Idade: 59 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Arteritis syphilitica. Aneurysma arcus aortae. Compressio pulmonis dextri, venae cavae superioris, oesophagi et tracheae. Infarctus, hyperaemia et oedema pulmonum. Erosio sterni. Pleuritis chronica adhesiva. Degeneratio adiposa et hyperaemia hepatis. Hyperaemia chronica lienis. Nephritis interstitialis chronica. Adenoma renis sinistri. Fibrosis glandulae prostatae.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas, perivascular central.

Autopsia nº. 1334.
Sexo: Masculino.
Idade: 28 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica. Aneurisma aortae thoracicae. Necrosis vertebrarum dorsalium et costarum, Compressio medullae spinalis. Pyonephritis. Cystitis pseudomembranosa. Emphysaema pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva. Ankylostomiasis.

Verificação histologica da syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas, na camada cortical e medular. Thrombose. Hemorrhagia. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1339.
Sexo: Masculino.

Idade: 23 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Syphilis Stricturae urethrae. Dilatatio circumscripta urethrae et urethritis necrotica. Cystitis suppurativa et hypertrophia vesicae urinalis. Pyelitis chronica et hydronephrosis levis renis dextri. Nephritis interstitialis chronica thrombotica. Perisplenitis chronica et synechia (abscessus antiquus). Hyperplasia lienis. Degeneratio parenchymatosa, cicatrices et synechiae hepatis. Pancreatitis interstitialis chronica. Compressio capsulae suprarenalis sinistrae. Fibrosis testis. Periorchitis chronica. Vesiculitis seminalis chronica. Hyperaemia et oedema pulmonum. Hypertrophia ventriculi sinistri. Infiltratio adiposa myocardii. Leptomeningitis chronica. Lingua glabra. Lymphadenitis chronica lumbaris. Ulcus cruris. Cicatricse cutis. Cicatrix vulneris puncti abdominis.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, ganglios lymphaticos, testiculo e glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular, camada cortical e medullar. Ligeiro espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1340.
Sexo: Masculino.
Idade: 50 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Malaria. Ankylostomiasis. Ileocolitis acuta serosa et ulcerativa incipiens. Peritonitis acuta suppurativa. Hydroperitoneum. Hepatitis interstitialis chronica. Hyperplasia lienis et perisplenitis chronica. Pigmentatio lienis et hepatis. Fibrosis testis dextri. Nephritis acuta parenchymatosa. Hydrothorax duplus. Hypreaemia, oedema et anthracosis pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Pericarditis chronica circumscripta. Sclerosis vavulae mitralis et aorticae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Arteriosclerosis. Cicatrix ulceris duodeni. Anaemia cerebri.

Verificação histologica de syphilis: Figado, endocardio, testiculo, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1350.
Sexo: Masculino.
Idade: 43 annos.
Nacionalidade: Allemã.

Diagnostico anatomico: Oedema, hyperaemia et emphysaema pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Hydrothorax. dexter Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri. Arteriosclerosis. Hyperplasia et hyperaemia capsulae suprarenalis utriusque. Hyperaemia chronica hepatis. Pyelitis sinistra. Cystitis catarrhalis. Atrophia circumscripta corticis cerebri. Atrophia cruris et brachii sinistri. Asymetria faciei. Encephalomalacia nuclei lenticularis et capsulae internae dextrae. Anomalia pulmonis sinistri.

Verificação histologica de syphilis: aorta, cerebro, glandula supra renal.

Glandula supra renal Infiltração lymphocytaria perivascular, ligeira. Lipoide da cortex. Hyperaemia.

Autopsia nº. 1351
Sexo: Masculino.
Idade: 57 annos.
Nacionalidade: Italiana.

Diagnostico anatomico: Mesaortitis chronica. Aneurysma arcus aortae. Bronchopneumonia, oedema et emphysaema pulmonis. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Perisplenitis chronica. Splenomalacia. Nephritis interstitialis chronica. Cholelithiasis. Hyperplasia nodularis et diffusa prostatae. Sclerosis arteriae basilaris. Cicatrix penis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1361.
Sexo: Masculino.
Idade: 34 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Syphilis Aneurisma aortae thoracicae in parte descendente. Mesaortitis. Atelectasia pulmonis sinistri. Bronchopneumonia tuberculosa. Pleuritis chronica adhesiva. Necrosis vertebrarum. Hyperaemia chronica passiva hepatis et renum. Atrophia lienis. Lymphodenitis mesaraica. Dilatatio ventriculi dextri.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e algumas cellulas plasmaticas, perivascular central. Espessamento pronunciado da capsula.

Autopsia nº. 1362.
Sexo: Masculino.
Idade: 35 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Hepatitis interstitialis chronica. Hyperplasia lienis. Perisplenitis chronica. Nephritis parenchymatosa chronica. Hypertrophia ventriculi utriusque. Pleuritis chronica sinistra. Infiltratio adiposa myocardii. Oedema et hyperaemia pulmonum. Necrosis saepti nasis et cicatrix alae nasis et glabelae. Colitis ulcerativa. Anasarca. Cicatrices crurum. Haemorrhagia capsulae suprarenalis sinistrae.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, figado, nariz, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular central. Hemorrhagia.

Autopsia nº. 1363.
Sexo: Masculino.
Idade: 53 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Pericarditis fibrino purulenta. Pleuritis fibrino purulenta sinistra. Atelectasia pulmonis sinistri Emphysaema marginalis pulmonis dextri. Oedema lobi superioris et medii pulmonis dextri. Oedema et hyperaemia lobi inferioris pulmonis dextri. Splenitis acuta. Hyperaemia chronica passiva et degeneratio adiposa hepatis. Dermatitis papulosa.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular central ligeira. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1373.
Sexo: Masculino.
Idade: 60 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Atheroma aortae. Bronchopneumonia. Tuberculosis fibrosa pulmonis dextri. Oedema et hyperaemia pulmonum. Pleuritis chronica dextra. Hyperaemia hepatis et renum. Decubitus. Cicatrix penis. Cystitis pseudomembranosa. Proctitis. Diverticula sigmoidea (?).

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria de cellulas plasmaticas perivascular. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1374.
Sexo: Masculino.
Idade: 29 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Haemorrhagia cerebralis. Encephalomalacia capsulae internae, nuclei lenticularis et lobi frontalis dextri. Hyperaemia meningium, pulmonis dextri, renum, hepatis, lienis et capsularum suprarenalium. Bronchopneumonia sinistra. Pleuritis chronica sinistra. Hypertrophia ventriculi sinistri.

Verificação histologica da syphilis: Aorta, cerebro.

Glandula supra renal: Adenoma da camada cortical. Hyperaemia. Lipoidose cortex (ligeira).

Autopsia nº. 1383.
Sexo: Masculino.
Idade: 63 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Ulcus carcinomatosum ventriculi cum perforatione. Carcinoma melastatica in nodis mediastini posterioris, perigastricis et lumbaris. Peritonitis serofibrinosa. Arteriosclerosis et aortitis chronica (syphilis). Atrophia cordis, hepatis et lienis. Hyperaemia et oedema pulmonis dextri. Nephritis interstitialis chronica. Oedema meningium.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, penis, rins, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas, perivascular central e fóra da capsula.

Autopsia nº. 1386.
Sexo: Masculino.
Idade: 21 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Tuberculosis miliaris acuta pulmonum, hepatis et lienis. Lymphadenitis tuberculosa mesaraica et mesocolica. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Pharyngitis ulcerativa. Laryngitis ulcerativa. Oesophagitis ulcerativa. Tracheitis ulcerativa. Syphilis. Cicatrix penis. Perisplenitis chronica. Perihepatitis chronica. Pleuritis adhesiva sub-acuta. Hypertrophia ventriculi utriusque. Aortitis. Clades saepti nasis. Ulcus alae sinistrae. nasis (Leishmaniosis). Granuloma nasis (Leishmaniosis). Ulcus labii superioris (Leishmaniosis) Atrophia renum. Ankylostomiasis.

Verificação histologica de syphilis: Larynge, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria de cellulas plasmaticas perivascular central. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1400.
Sexo: Masculino.
Idade: 90 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Ulcera et cicatrices syphilitica cutis, laryngis et tracheae. Exfoliatio epidermis. Aortitis chronica syphilitica. Hypertrophia et dilatatio ventriculi utriusque. Emphysaema et oedema pulmonum. Hyperaemia chronica hepatis et lienis. Cicatrices renum. Typhlitis ulcerativa. Oedema leptomeningium. Ankylostomiasis. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Trachéa, aorta, pelle, larynge, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular central.

Autopsia nº. 1416.
Sexo: Masculino.
Idade: 20 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

*Diagnostico anatomico :*Emphysaema pleurae sinistrae. Pneumonia crouposa pulmonis sinistri. Bronchopneumonia pulmonis dextri. Gangraena circumscripta pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Hyperaemia hepatis. Perihepatitis chronica. Hyperplasia lienis. Hyperplasia lymphoidea intestini. Atheroma aortae. Cicatrices cutis. Vitiligo. Fibroma renis sinistri. Trichuriasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle.

Glandula supra rneal: Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1428.
Sexo: Masculino.
Idade: 41 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Nephritis parenchymatosa chronica. Degeneratio adiposa myocardii. Degeneratio adiposa et atrophia levis hepatis. Oedema pulmonum. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Anaemia cerebri. Perisplenitis chronica. Diverticulum intestini (Meckel). Syphilis. Cicatrix penis. Oedema levis crurum. Ankylostomiasis. Lymphadenitis chronica inguinalis.

Verificação histologica de syphilis: Ganglios lymphaticos, glandula supra-renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular central. Espessamento da capsula. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1433.
Sexo: Masculino.
Idade: 63 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia sinistra. Pleuritis fibrinosa dextra. Pyothorax. Atelectasia pulmonis dextri. Bronchitis acuta catarrhalis. Aortitis syphilitica. Hypertrophia ventriculi utriusque. Hyperaemia et degeneratio adiposa hepatis. Degeneratio parenchymatosa renum. Ankilostomiasis, Ascariasis. Leucoplakia oesophagi.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração leucocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular. camada medullar. Fibrose. Espessamento da capsula. Hyperaemia, adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1436.
Sexo: Masculino.
Idade: 28 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Pneumonia crouposa dextra. Oedema et hyperaemia pulmonis sinistri. Pleuritis adhesiva dextra. Mesaortitis syphilitica. Degeneratio adiposa hepatis. Nephritis acuta parenchymatosa. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia lienis. Ulcera oesophagi. Adenoma capsulae suprarenalis sinistrae. Ankylostomiasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta.

Glandula supra renal: Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1457.
Sexo: Masculino.
Idade: 48 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Haemorrhagia. Aneurysma arcus aortae et aortae descendentis. Ruptura aneurismae in oesophagum. Pneumonia lobi inferioris pulmonis sinistri. Atelectasia lobi superioris pulmonis sinistri. Arteritis arteriarum carotidum. Perisplenitis chronica. Hyperaemia chronica hepatis.

Microscopicamente: Pneumonia syphilitica l. i. p. s. Adrenalitis syphilitica. Nephritis chronica diffusa.

Verificação histologica de syphilis: Aneurisma, pulmão, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Intensa infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular e disseminadamente. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1463.
Sexo: Masculino.
Idade: 49 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Pneumonia crouposa dextra. Atelectasia pulmonis sinistri. Hepatitis chronica. Perihepatitis chronica. Peritonitis chronica Atrophia lienis. Perisplenitis chronica. Arteritis syphilitica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri Degeneratio parenchymatosa renum. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, figado, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria da camada cortical. Perivascular fóra da capsula.

Autopsia nº. 1469.
Sexo: Masculino.
Idade: 26 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia ulcerativa tuberculosa dupla. Lymphadenitis tuberculosa peribronchialis et mesaraica. Pleuritis adhesiva chronica. dupla. Laryngitis ulcerativa syphilitica. Appendicitis tuberculosa. En-

terocolitis ulcerativa tuberculosa. Cicatrix penis. Peritonitis tuberculosa circumscripta.

Verificação histologica de syphilis: Penis, larynge, glandula supra trenal.

Glandula supra renal: Ligeira infiltração lymphocytaria perivascular.

Autopsia nº. 1470.
Sexo: Masculino.
Idade: 48 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Arteriosclerosis. Aortitis chronica syphilitica. Nephritis interstitialis chronica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri et auricularum. Sclerosis vasorum cerebri. Oedema, emphysaema et hyperaemia pulmonum. Hyperaemia passiva chronica hepatis. Petechiae ventriculi et pericardii. Hydrothorax duplus Calcificatio glandulae thyreoidicae. Atrophia lienis. Ankylostomiasis. Dilatatio vesicae urinalis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e algumas cellulas plasmaticas perivascular. Lipoidose cortex. Hyperaemia. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1479.
Sexo: Masculino.
Idade: 46 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Stenosis et cicatrices recti. Colitis ulcerativa et polyposa. Perforatio coli sigmoidei. Varices renae haemorrhoidalis. Atrophia fusca myocardii. Tuberculosis apicum pulmonum. Atelectasia pulmonis sinistri. Emphysaema et oedema pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Perisplenitis chronica. Atrophia fusca hepatis. Hyperaemia passiva renum.

Verificação histologica de syphilis: Larynge, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular. Hyperaemia.

Autopsia nº. 1484.
Sexo: Masculino.
Idade: 45 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Aortitis chronica syphilitica. Aneurisma aortae descendentis. Ruptura aneurismae in oesophagum. Haemorrhagia in ventriculum, intestinum tenue et in coecum. Arteritis et degeneratio adiposa arteriae anonymae et carotidis. Hyperplasia nodorum mesaraicorum. Oedema oesophagi. Calcificatio cartilaginium costalium. Cicatrices penis. Degeneratio adiposa hepatis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, penis, ganglios lymphaticos, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1494.
Sexo: Masculino.
Idade: 32 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Aortitis syphilitica. Oedema pulmonum. Hypertrophia ventriculi sinistri. Degeneratio adiposa hepatis. Hyperaemia lienis. Hyperaemia renum. Ulcera crurum. Cicatrices penis. Cicatrices crurum.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, penis, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração de cellulas plasmaticas, na camada medular. Hyperaemia.

Autopsia nº. 1499.
Sexo: Feminino.
Idade: 50 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Cystis hepatis. Nephritis interstitialis chronica cum cystide. Cystis ovarii dextri. Adenoma glandulae thyroidicae. Degeneratio pa-

renchymatosa hepat's. Cystis plexi choroidici sinistri. Aortitis chronica. Ventriculus bilocularis. Hyperplasia lymphoidea lienis. Haemorrhagiae lienis. Sclerosis vasorum basis cerebri. Fibrosis myocardii. Hypertrophia et dilatatio ventriculi sinistri. Laparatomia. Adipositas. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, myocardio, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas, da camada cortical.

Autopsia nº. 1504.
Sexo: Masculino.
Idade: 24 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Nephritis diffusa acuta. Ulcus oesophagum gastricum. Colitis ulcerativa et haemorrhagica. Hyperaemia intestini tenuis. Degeneratio adiposa hepatis. Syphilis. Cicatrix penis. Bronchopneumonia haemorrhagica pulmonis dextri. Cicatrices inguino crurales. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: penis, ganglios lymphaticos.

Glandula supra renal: Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1515.
Sexo: Masculino.
Idade: 50 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica et aneurisma aortae abdominalis. Pneumonia lobi inferioris sinistri (syphilis). Atrophia cordis. Perisplenitis chronica. Anaemia renis sinistri. Atrophia hepatis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pulmões.

Autopsia nº. 1527.
Sexo: Masculino.
Idade: 34 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Carcinoma ulcerativum, ventriculi. Carcinoma metastaticum hepatis et nodorum subdiaphragmaticorum et peripancreaticorum. Cachexia. Aortitis chronica syphilitica. Clades nasis. Cicatrices penis. Atrophia fusca cordis. Oedema pulmonum. Hydrocele sinister. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, penis, nariz.

Autopsia nº. 1540.
Sexo: Masculino.
Idade: 45 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Malaria. Hyperplasia et pigmentatio lienis et hepatis. Pigmentatio paniculi adiposi cutis et pericardii. Pigmentatio pancreatis et serosae intestini. Icterus. Nephritis interstitialis chronica. Petechiae mucosae intestini. Pigmentatio mucosae ventriculi. Ulcera crurum. Hyperplasia corticis glandularum suprarenalium. Nodulae plexi choroidei.

Verificação histologica de syphilis: Glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular e disseminadamente.

Autopsia nº. 1545.
Sexo: Masculino.
Idade: 50 annos.
Nacionalidade:

Diagnostico anatomico: Arteriosclerosis. Encephalomalacia. Nephritis interstitialis chronica (a. s.). Pneumonia crouposa loborum superioris et inferioris pulmonis dextri. Sclerosis vasorum basis cerebri. Hepatitis interstitialis chronica. Cholelithiasis. Perisplenitis chronica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Calcificatio valvularum aortae. Sclerosis vesicularum seminalium. Sclerosis testis dextri.

Verificação histologica de syphilis: Figado, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular com espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1557.
Sexo: Masculino.
Idade: 28 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Hyparaemia et hyperplasia chronica lienis. Malaria. Ankylostomiasis. Syphilis. Degeneratio parenchymatosa acuta renum. Hyperaemia chronica et degeneratio adiposa hepatis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia et oedema pulmonum. Dilatatio auriculae utriusque. Cicatrices cutis Hydrothorax duplus. Hydropericardium. Hydroperitoneum. Degeneratio adiposa aortae.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1565.
Sexo: Masculino.
Idade: 21 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia dupla. Pleuritis fibrinopurulenta sinistra. Pleuritis serosa dextra. Splenitis acuta. Dilatatio ventriculi et auriculae dextraae. Nephritis parenchymatosa acuta. Infarctus renis. Hyperae mia meningium. Ulcera cruris sinistri. Cicatrices crurum et penis.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, glandula supra renal.

Glandula supra rneal: Infiltração lymphocytaria perivascular central

Autopsia nº. 1569.
Sexo Masculino:
Idade: 63 annos.
Nacionalidade: Italiana.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica et arteriosclerosis. Nephritis interstitialis chronica. Anaemia. Ulcus faciei sinistrae. Atrophia fusca cordis. Atrophia hepatis. Atrophia capsularum suprarenalium. Perisplenitis chronica. Emphysaema pulmonum. Oedema loborum inferiorum pulmonis utriusque. Gastritis chronica. Oedema crurum. Phymosis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº.1572.
Sexo: Masculino.
Idade: 40 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica. Aneurysma aortae ascendentis. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Oedema et emphysaema pulmonum. Hyperaemia passiva hepatis et lienis. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Oedema cutis. Cicatrix collis. Anasarca.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular. Espessamento da capsula. Hyperaemia.

Autopsia nº. 1581.
Sexo: Masculino.
Idade:
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Tracheitis ulcerativa (syphilis). Oedema glottidis. Gumma pulmonis. Cicatrices hepatis (hepar lobatum). Fibrosis vesicularum seminalium. Lymphadenitis chronica inguinalis et subdiaphragmatica. Atheroma levis aortae. Nephritis interstitialis chronica et infarctus renum. Hyperplasia lienis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Emphysaema et oedema pulmonum.

Verificação histologica de syphilis: Trachea, aorta, figado, pulmão, ganglios lymphaticos, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração tymphocytaria de cellulas plasmaticas perivascular. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1588.
Sexo: Masculino.
Idade: 29 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Neoplasma pleurae dextrae. Pleuritis adhesiva chronica dextra. Hydrothorax dexter. Atelectasia pulmonis dextri. Oedema pulmonis sinistri. Hydroperitoneum. Haemopericardium., Petechiae peritonei. Degeneratio adiposa et hyperaemia chronica passiva hepatis. Infarctus lienis. Cicatrices cutis. Cicatrices penis. Ankylostomiasis. Decubitus.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, penis, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular central. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1589.
Sexo: Masculino.
Idade: 20 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Pneumonia crouposa lobi inferioris pulmonis sinistri et bronchopneumonia lobi superioris pulmonis dextri. Pleuritis fibrinosa acuta et fibrosa chronica adhesiva sinistra. Hydrothorax duplus. Haemorrhagiae musculorum intercostalium. Splenomegalia. Nodulus perirenalis. Hyperostosis syphilitica tibiae sinistrae. Ulcus cubiti. Ulcus crurum. Cicatrices et pigmentatio cutis. Phymosis.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, figado.

Glandula supra renal: Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1591.
Sexo: Masculino.
Idade: 40 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia lobi inferioris et partis inferioris et superioris pulmonis sinistri. Oedema et hyperaemia lobi pulmonis dextri. Nephritis interstitialis levis et degeneratio parenchymatosa renum. Atrophia levis hepatis. Myelitis. Hyperaemia meningium et cerebri. Fibrosis lienis. Atrophia musculi sceleti. Ascariasis. Noduli plexorum choroidicorum. Cicatrix penis.

Verificação histologica de syphilis: *Glanulda supra renal:* Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas na camada cortical e medullar.

Autopsia nº. 1600.
Sexo: Feminino.
Idade: 26 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Septicaemia. Angiocolitis acuta. Hyperaemia pulmonum et renum. Uterus subinvolutus. Retentio placentae. Endometritis acuta.

Verificação histologica de syphilis. glandula supra renal.

Glandula supra renal Infiltração lymphocytaria perivascular.

Autopsia nº. 1616.
Sexo: Masculino.
Idade: 49 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia tuberculosa dextra. Pleuritis tuberculosa chronica dextra cum calcificatione. Oedema et hyperaemia pulmonum. Hepatitis chronica. Perihepatitis chronica circumscripta. Perisplenitis chronica. Gastritis chronica catarrhalis.

Verificação histologica de syphilis: glandula supra renal.

Glandula supra rneal: Infiltração lymphocytaria perivascular e camada cortical.

Autopsia nº. 1620.
Sexo: Masculino.
Idade: 19 annos.

Diagnostico anatomico: Pleuritis fibrinopurulenta dupla. Mediastinitis fibrinopurulenta. Endocarditis acuta mitralis. Nephritis parenchymatosa subacuta. Hyperplasia levis nodorum retroperitonealium. Splenomegalia (17 + 10 + 4,5) (syphilis). Perisplenitis chronica. Perihepatitis chronica. Fibrosis hepatis (Syphilis).

Haemorrhagia et hyperaemia suprarenalium.

Verificação histologica de syphilis: Figado, glandula suprarenal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas fóra da capsula. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1621.
Sexo: Masculino.
Idade: 30 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Peritonitis fibrino-purulenta. Degeneratio adiposa hepatis. Hyperaemia et oedema pulmonum. Degeneratio parenchymatosa renum. Pancreatitis chronica interstitialis (interlobularis et intralobularis). Anaemia. Amputatio femoris sinistri. Cicatrices cruris dextri. Pleuritis chronica adhesiva dextra.

Verificação histologica de syphilis: Pancreas, glandulas supra renaes.

Glandulas supra renaes: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular e em toda a capsula.

Autopsia nº. 1622.
Sexo: Feminino.
Idade: 19 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Pacchymeningitis haemorrhagica interna. Hypostasis pulmonum et bronchitis acuta. Infarctus pulmonum. Lymphadenitis tuberculosa peritrachialis. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Oedema leptomeningium. Arteriosclerosis. incipiens. Cicatrices cutis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular central.

Autopsia nº. 1625.
Sexo: Feminino.
Idade: 62 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Aortitis syphilitica. Nephritis interstitialis chronica.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria na camada cortical.

Autopsia nº. 1630.
Sexo: Masculino.
Idade: 45 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Arteriosclerosis. Aortitis chronica syphilitica. Ulcus tuberculosum intestini tenuis. Dilatatio oesophagi et synechiae nodorum. Calcificatio nodorum peribronchialium. Bronchopneumonia loborum inferiorum pulmonum. Oedema et hyperaemia pulmomonum. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Degeneratio adiposa myocardii et hepatis. Atrophia lienis. Oedema leptomeningium. Hydrocele dexter. Nephritis parenchymatosa levis acuta Cicatrices crurum. Fibrosis testis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle, testiculo.

Autopsia nº. 1633.
Sexo: Masculino.
Idade: 45 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Tuberculosis ulcerativa et peribronchialis. lobi superioris sinistri. Oedema et hyperaemia pulmonum. Lymphadenitis tuberculosa peritrachealis. Hydrothorax sinister. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Tuberculosis ulcerativa tracheae. Dilatatio universalis cordis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Enterocolitis tuberculosa ulcerativa. Hyperaemia lienis. Hyperaemia et degene ratio adiposa hepatis. Nephritis parenchymatosa chronica. Adenoma capsulae adrenalis dextrae. Fibrosis testis dextri. Hyperplasia nodorum inguinalium. Cicatrices cutis.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, testiculos, ganglio lymphatico.

Glandula supra renal: Tuberculose. Adenoma.

Autopsia nº. 1634.
Sexo: Masculino.
Idade: 64 annos.
Nacionalidade: Italiana.

Diagnostico anatomico: Syphilis pulmonum. Nephritis interstitialis chronica. Degeneratio adiposa hepatis. Oedema pulmonum. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Oedema subcutaneum. Vesiculitis seminalis chronica.

Verificação histologica de syphilis. Pulmão, myocardio, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria disseminada e perivascular.

Autopsia nº. 1637.
Sexo: Masculino.
Idade: 23 annos.
Nacionalidade Brasileira.

Diagnostico anatomico: Leptomeningitis suppurativa acuta. Hyperaemia nodulorum Peyeri. Haemorrhagia capsulae suprarenalis dextrae. Tuberculosis peribronchialis pulmonis dextri. Lymphadedenitis tracheobronchialis. Aortitis syphilitica. Exanthema. Petechiae pericardii et mucosae vesicae urinalis. Ascariasis. Trichuriasis. Cystis peritrachealis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas perivascular. Haemorrhagia, infarcto.

Autopsia nº. 1645.
Sexo: Masculino.
Idade: 33 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Tuberculosis miliaris et ulcerativa pulmonum. Meningitis tuberculosa. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Aortitis syphilitica. Hyperaemia hepatis, lienis et renum. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Tuberculosis prostatae. Colitis ulcerativa. Varices recti. Ankylostomiasis. Trichuriasis. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Musculos.

Autopsia nº. 1654.
Sexo: Masculino.
Idade: 36 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Septicemia. Syphilis gravis. Perihepatitis et perisplenitis chronica. Gummata hepatis et lienis. Hyperplasia lienis. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Hyperaemia hepatis, lienis et renum. Hepatitis interstitialis chronica sporadica. Colitis catarrhalis. Cicatrix epiglottidis. Fibrosis testis sinistri. Gastritis catarrhalis. Hyperaemia pulmonum. Cicatrices crurum.

Verificação histologica de syphilis: Pelle, figado, testiculo, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria disseminada.

Autopsia nº. 1655.
Sexo: Masculino:
Idade: 26 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia dextra. Pleuritis fibrinosa dextra. Pleuritis adhesiva chronica dupla. Pericarditis acuta fibrinopurulenta. Laryngitis pseudomembranosa (Diphteria). Tracheotomia. Hyperplasia lienis. Perisplenitis et perihepatitis chronica. Hepatitis intrsetitialis chronica et cicatrices. Pericholangitis chronica. Colitis follicularis. Gastritis haemorrhagica. Petechiae istestini tenuis. Lymphadenitis tuberculosa peribronchialis et peritrachealis. Oedema epiglottidis. Medulla ossea rubra. Ascariasis. Ankylostomiasis. Nephritis diffusa acuta. Hyperplasia glandularum suprarenalium. Cicatrices crurum. Syphilis. Hydrocele dupla. Lymphadenitis chronica mesaraica. Schistosomiasis.

N. B.—O caso parece ser de Molestia de BANTI, morto por causa de uma infecção diphterica.

Verificação histologica de syphilis: glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1662.
Sexo: Masculino.
Idade: 62 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Bronchopneumonia confluens lobi inferioris dextri. Tuberculosis ulcerativa chronica et fibrosis lobi superioris pulmonis dextri. Pneumonia syphilitica. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Hyperaemia cerebri. Lymphadenitis acuta peribronchialis. Nephritis interstitialis chronica. Atrophia fusca cordis. Atrophia hepatis et perihepatitis chronica (levis). Hepatitis interstitialis (syphilis). Atrophia et fibrosis lienis. Arteriosclerosis. Gastritis chronica atrophica. Enteritis haemorrhagica acuta. Fibrosis testis. Hypertrophia prostatae.

Verificação histologica de syphilis: Pulmão, e testiculo.

Glandula supra renal: Ganglios lymphaticos intracapsulares. Adenoma da capsula.

Autopsia nº. 1668.
Sexo: Masculino.
Idade: 70 annos.
Nacionalidade: Inglez.

Diagnostico anatomico: Leptomeningitis suppurativa acuta (meningococcus). Nephritis interstitialis chronica. Arteriosclerosis. Aortitis chronica cyphilitica Splenitis acuta. Tuberculosis fibrocaseosa apicis pulmonis dextri. Hyperaemia pulmonum Petechiae epicardii et mucosae vesicae urinalis. Fibrosis et atrophia testis dextri.

Verificação histologica de syphilis:. Aorta, testiculo, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e cellulas plasmaticas perivascular. Hyperaemia.

Autopsia nº. 1670.
Sexo: Masculino.
Idade: 26 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Otitis media suppurativa. Bronchopneumonia confluens lobi inferioris pulmonis sinistri. Pleuritis fibrinosa acuta sinistra. Lymphadenitis acuta peribronchialis. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Hydroperitoneum. Hyperaemia chronica et degeneratio hepatis. Degeneratio et cicatrices renum. Splenitis acuta. Aortitis syphilitica. Gastritis subacuta. Ulcera cruris. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, pelle.

Autopsia nº. 1671.
Sexo: Feminino.
Idade: 24 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Ankylostomiasis. Degeneratio acuta renum. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Hydropericardium. Endocarditis acuta vegetativa mitralis (levis). Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Anomalia cordis. Oedema pulmonum. Anaemia. Splenomegalia et cicatrices lienis. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis. Glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1677.
Sexo: Masculino.
Idade: 40 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica. Endocarditis chronica valvulae aorticae. Hypertrophia et dilatatio universalis cordis. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Tuberculosis fibrosa chronica lobi superioris pulmonis dextri.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, endocardio, glandula supra renal

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1679.
Sexo: Masculino.
Idade: 41 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica. Dilatatio universalis cordis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperplasia, hyperaemia et pigmentatio lienis. Hyperaemia chronica renum. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Hydrothorax dexter. Emphysaema pulmonum. Hyperaemia meningium. Haemorrhagia subpleuralis dextri. Gastritis ulcerativa. Ankylostomiasis. Ascariasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, rins, pulmão, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular e medullar. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1681.
Sexo: Feminino:
Idade: 35 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Aortitis syphilitica et aneurisma arcus aortae. Dilatatio et hypertrophia ventriculi sinistri. Endocarditis chronica aortae. Obliteratio orificii arteriae coronariae dextrae. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Hyperaemia et oedema pulmonis utriusque. Atelectasia lobi inferioris pulmonis sinistri. Hyperaemia renum. Hyperaemia chronica passiva et degeneratio hepatis. Pleuritis fibrosa chronica adhesiva dupla. Cicatrices colli uteri. Ankylostomiasis. Cadaver putrefactum.

Verificação histologica de syphilis: Aneurisma, endocardio, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular. Adenoma da capsula. Lipoidose.

Autopsia nº. 1683.
Sexo: Masculino.
Idade: 39 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Syphilis. Aortitis syphilitica. Lymphadenitis universalis. Tuberculosis circumscripta pulmonis sinistri. Pleuritis adhesiva chronica dupla. Hyperaemia pulmonum, hepatis, lienis, renum et cerebri.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula suprarenal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular. Ligeiro espessamento da capsula. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1684.
Sexo: Masculino.
Idade: 45 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Tuberculosis ulcerativa pulmonis. Tuberculosis miliaris peribronchialis. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Arteriosclerosis. Degeneratio adiposa hepatis Hernia directa inguinalis dextra.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Galndula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas. perivascular. Lipoidose da cortex.

Autopsia nº. 1685.
Sexo: Feminino.
Idade: 25 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Cicatrix et stenosis pylori. Lymphadenitis suppurativa peripancreatica, mesenterica et preaortica. Cicatrices tuberculosae ilei. Tuberculosis fibrocaseosa circumscripta pulmonis dextri. Degeneratio adiposa myocardii. Aortitis syphilitica. Degeneratio adiposa hepatis. Degeneratio parenchymatosa renum. Oophoritis tuberculosa. Cicatrices cutaneae inguinocrurales. Cachexia. Myocarditis syphilitica.

Verificação histologica de syphilis:

Myocardio e aorta, glanglio lymphatico, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas, perivascular central. Adenoma. Espessamento consideravel da capsula.

Autopsia nº. 1687.
Sexo: Masculino.
Idade:
Nacionalidade:

Diagnostico anatomico: Peritonitis suppurativa acuta. Salpingitis, endometritis, myometritis suppurativa. Lymphadenitis tracheobronchialis tuberculosa. Aortitis syphilitica. Pleuritis adhesiva dextra. Cadaver putrefactum.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria perivascular.

Autopsia nº. 1688.
Sexo: Feminino.
Idade: 29 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Pyodermatitis faciei. Abscessus pulmonum. Pleuritis fibrinosa acuta. Arteritis syphilitica incipiens. Hyperplasia et hyperaemia lienis. Hyperaemia hepatis et renum. Decubitus. Pigmentatio circumscripta crurum. Ascariasis. Trichuriasis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria ligeira na cameda cortical. Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1689.
Sexo: Feminino.
Idade: 49 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: (Morbus Raynaudi). Bronchopneumonia loborum inferioris et medii pulmonis dextri. Pleuritis serofibrinosa sinistra. Pleuritis adhesiva subacuta dextra. Pericarditis serofibrinosa levis. Hypertrophia ventriculi utriusque cordis. Atrophia flava hepatis. Nephritis interstitialis chronica. Arteriosclerosis. Gangraena digitorum manus sinistrae. Clades digitorum manus dextrae. Gangraena digitorum pedis dextri. Sclerosis levis vasorum basis cerebri. Oedema leptomeningium. Endarteritis obliterans syphilitica membrorum.

Verificação histologcia de syphilis: Aorta, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Espessamento da capsula.

Autopsia nº. 1691.
Sexo: Masculino.
Idade: 48 annos.
Nacionalidade: Portugueza.

Diagnostico anatomico: Epithelioma bronchi. Epithelioma metastaticum pulmonis, nodorum mediastinorum, oesophagi, hepatis et glandulae suprarenalis. Pneumonia crouposa. Pleuritis fibrinosa acuta sinistra. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Emphysaema pulmonis dextri. Splenitis acuta. Nephritis parenchymatosa acuta. Aortitis chronica syphilitica. Hydrocele dupla. Hernia inguinalis directa.

Microscopicamente foram encontrados fócos do tumor no myocardio.

Verificação histologica de syphilis: Aorta.

Glandula supra renal: Adenoma da capsula. Carcinoma.

Autopsia nº. 1692.
Sexo: Masculino.
Idade: 50 annos.
Nacionalidade: Hespanhola.

Diagnostica anatomico: Malaria. Oedema pulmonum. Degeneratio parenchymatosa renum. Pigmentatio hepatis et lienis. Splenitis acuta. Arteriosclerosis. Icterus. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Aortitis chronica syphilitica. Tuberculosis fibrocaseosa pulmonis.

Verificação histologica de syphilis: Aorta, e glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria e de cellulas plasmaticas perivascular e disseminadamente.

Autopsia nº. 1700.
Sexo: Masculino.
Idade: 28 annos.
Nacionalidade: Brasileira.

Diagnostico anatomico: Pneumonia crouposa dextra. Tuberculosis fibrocaseosa pulmonis dextri. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Aortitis chronica syphilitica. Degeneratio adiposa myocardii. Degeneratio adiposa et tuberculosis miliaris hepatis. Nephritis parenchymatosa. Splenitis acuta. Anaemia. Anasarca. Cicatrix penis. Ankylostomiasis.

Microscopicamente foi verificado infiltração lymphocytaria na capsula supra renal.

Verificação histologica de syphilis: Penis, glandula supra renal.

Glandula supra renal: Infiltração lymphocytaria camada medullar e perivascular.

Ano 1922

Tomo XV

Faciculo I

Translations

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Manguinhos

The Discovery of Trypanosoma Cruzi and of American Trypanosomiasis

Historic retrospect

by

DR. CARLOS CHAGAS

Directeur of the Instituto Oswaldo Cruz.

The discovery of american trypanosomiasis and chiefly the methods of reasoning which led to definitive results, furnish a new line of action for conducting similar research-work yet to be undertaken with a view to solving other obscure problems of human pathology.

This biological observation was carried out in a way completely different to that usually employed in recognising the etiology and pathology of diseases or in describing new ones. Furthermore, as in this discovery there are to be found interesting aspects and incidents which may be of use to other research workers, there follows an exact and minute description of the facts especially those concerning the more important points.

The discovery of the parasite here preceded the recognition of the disease and when in the blood of a feverish child I found the pathogenic trypanosome I had already acquired a complete notion of its biology.

But for greater clearness it is more advisable to expose the facts in their uninterrupted order :

As a consequence of the outbreak of a malaria epidemic amongst Government workmen on the Central Railway of Brasil, in the valley of the Rio das Velhas (State of Minas Geraes) the Minister MIGUEL CALMON applied to OSWALDO CRUZ for steps to be taken. OSWALDO CRUZ immediately complied, intent as he was on proceeding with the anti-malarial campaigns succesfully undertaken in other parts of the country and decided to entrust me with the sanitary measures.

Together with Dr. BELISARIO PENNA whom I invited to be assistant in this commission, I started out for the interior of Minas Geraes and installed

myself on the banks of the Rio Bicudo where the works on the railroad lingered belated by the epidemic. The malaria prophylaxis was untertaken with the most satisfactory results and regular work on the railroad was once more begun.

We remained more than a year in this region without becoming aware of the existence in the local huts, of a blood-sucking insect known popularly the name of *barbeiro, chupão* or *chupança*. By this time we had already had the opportunity of carrying out locally a good deal of clinical observation and of studying a great number of cases not only amongst those subject to malarial infection, in the valleys of big and small rivers but also among the inhabitants of mountainous regions who were entirely exempt of this disease.

And from that time on, experimental laboratory methods and the most careful semiotic consideration of the cases were alike of no avail in diagnosing some of the cases submitted to us. In these there remained unknown something new in the dominion of pathology to stimulated our curiosity.

On a journey to Pirapora and while spending the night in an engineers' camp Dr. BELISARIO PENNA and I first made the acquaintance of the *barbeiro*, shown to us by Dr. CANTARINO MOTTA, chief of the engineering committee.

Once we had heard of the blood-sucking habits of this insect and of its proliferation in human dwelling-places, we became very interested in knowing its exact biology and above all in ascertaining if by any chance it were as I immediately supposed, a transmitter of any parasite of man or of another vertebrate.

The rôle of several blood-sucking insects in the transmission of human diseases and of several trypanosomiases of mammals, directed my line of thought and led me to obtain some more specimens of the insect, so as to search for the parasites which it might harbour in its digestive tube and salivary glands. Dissecting the insect, *I found in the posterior intestine of each one numerous flagellates with the appearance of crithidias.* This fact elicited two hypotheses: either the flagellate was a harmless natural parasite of the insect, or else it represented a stage in the evolution of a hæmo-flagellate of some vertebrate perhaps even of man.

Previously I had found a new species of trypanozome in the monkey Callithrix (Callithrix penicillata) and given the frequency of the infection of monkeys by *Trypanosoma minasense,* the species I described, I supposed the crithidias seen in the intestine of the *barbeiro* to be a phase in the evolution of this trypanosome which would then be transmitted by the insect. And as all the monkeys of the region proved to be infected the experiments of transmission with the purpose of confirming this hypothesis could not be carried out for obvious reasons. For this reason I sent some of the insects to my unforged table chief OSWALDO CRUZ, so that they should be allowed to suck healthy monkeys of the genus *Callithrix.* 20 or 30 days later when once again back in Manguinhos, I examined the blood of one of these monkeys that had been sucked by barbeiros and *found in it a trypanosome,* which at first sight and before examining it by the technical methods I took to be *Trypanosoma minasense.* After having seen the flagellate alive, between cover-glass and slide I made some fixed and stained preparations in which it was seen to show characters entirely distinct from those of *Trypanosoma minasense* and to show no similarity to any other trypanosome. It was undoubtedly a new species whose chief character lay in its blepharoplast, the biggest I had yet seen and located at the hind end (the end opposed to the free flagellum).

After having studied the new parasite's morphology I started to work on its biology. In repeated experiments, I obtained new laboratory infection not only in monkeys of the genus *Callithrix*, but also in guinea-pigs, rabbits and puppies. These infections were obtained in some cases by the stinging of the insect but mostly by inoculation of the flagellates taken from its intestine. Lengthy experiments thus allowed me to characterise the trypanosome as a new species and to established the part played by the *barbeiro* in its transmission. Besides this I made sure of the pathogenic properties of the trypanosome which brought about the death, in a variable period, of small laboratory animals, generally by septicæmia and without the disappearance of the parasite from the peripheric circulation. The remainder of the experiments I carried out related to the double evolutive cycle of the trypanosome in the vertebrates and in the insect transmitter, the forms of evolution in the intestine of the *barbeiro*, the artificial cultivation of the protozoon etc.

And it was then after having acquired ample knowledge of the parasite, in its morphology, general biology and pathogenic action that I undertook the second part of my research-work that was to give the more remarkable results as regards human pathology.

To the new species of trypanosome I gave the name of Trypanosoma Cruzi, in honour of my unforgettable leader, to whom I owe everything in my scientific career, and who in these studies was to me the most broad-minded of counsellers: to the impersonation of scientific capability and kindness, always ready to let me partake of the benefits of his knowledge and to harbour me in the warmth of his friendship. What little work has been accomplished by me in my professional career is more his than mine, and what there may be of useful in this work I attribute with pride and sincerity to the value of his teaching and to the example of his high faith, to that decisive sway of his strong personality and great abnegation upon all those who had the good-fortune to encounter him during their lifetime and to reap the benefits of that influence that shaped their careers.

This is the exact truth concerning the discovery of *Trypanosoma Cruzi*, known up to this point only as a parasite of a vertebrate of unknown species and transmitted by the sting of an insect. The latter was determined as Triatoma megista BURM. by Dr. ARTHUR NEIVA who in lengthy studies described its whole biology.

In this first period of our work the most interesting point was the observation of a hemipteron as a transmitter of parasites. This observation was far-reaching as regards general biology and was by itself a scientific fact of real importance.

I will now proceed to describe the discovery of *Trypanosoma Cruzi* in man and the observation of the new disease.

Returning to the triatoma-infested regions, it became my object to ascertain the vertebrate host of *Trypanosoma Cruzi*, inasmuch as the monkeys and laboratory animals I had worked upon were all of them experimentally infected and did not demonstrate the ordinary host of the parasite.

The difficulty of interpretation of the local clinical cases together with the supposition based on careful observation and lengthy research-work of the existence of a pathological condition that escaped identification with any established disease, facts which I had reflected on for some time and which made me suppose an unknown etiologic cause, became the starting-point for the work I then undertook. To add to this was

the primary circumstance of the triatoma's being a domestic insect with habitat, perhaps confined to human dwelling-places, and preferring to nourish itself on human blood during sleep. Under these circumstances, and to judge by the biology of blood-parasites it was to be admitted that the flagellate of the intestine of the blood-sucker, whose food is chiefly human blood, should undergo a gradual adaptation to the blood-medium and, at a given moment of its philogenetic evolution, become a parasite of man. Up to this point I was frankly in the realm of hypotheses, undoubtedly based on exact biological reasons but that nevertheless still awaited confirmation. Furthermore I was at that time unaware of the important fact that even in uninhabited regions, armadilloes *(Tatusia novemcincta)* are frequently infected with *Trypanosoma Cruzi*. This observation, completed by the finding of *Triatoma geniculata*, infected with trypanosomes in armadillo-holes led me to the conviction, justified by various arguments that the natural and ancestral host of the parasite is really the armadillo and that the human infection is the result of a later adaptation.

This point of view hardly to be opposed, since it has in its favour positive facts of observation as well as undeniable biological arguments, would explain the existence of infected triatomata in regions were the disease is unknown. As a matter, of fact, some people, with the curious object of denying *Trypanosoma Cruzi* any pathogenic action, state that the *barbeiro* has been found in some regions of Brasil and other countries carrying in its digestive tube flagellates that could be inoculated into small laboratory animals and that nevertheless the disease had not been reported in these regions.

Now, in the first instance it would be advisable to relate the clinical and experimental researches proving the inexistence of the disease, whose parasitological diagnostic is not an easy matter and as a rule is possible only post-mortem. And as for acute cases, to happen upon them it would be necessary to remain some time in the region. It would be of more use in excluding the existence of trypanosomiasis to carry out minute clinical observations based on an exact knowledge of the symptoms that characterise the different forms of the disease. Only after this had been done could one claim, that in this or that country, in one or another region, there were triatomata infected with parasites that could be inoculated in small laboratory animals without there having been observed any human infections.

But granting the opinion of those who disbelieve in american trypanosomiasis, unless we want to deny the existence of the disease altogether, which would be absurd in view of the exactness of the clinical observations, the post-mortem findings, and the experimental results, demonstrating in full the scientific interest and social importance of the disease, we are obliged to accept the above-mentioned apparently contraditory fact, taken from my conclusions, namely that in these regions the adaptation of the trypanosome to man is not yet accomplished and that the races observed in the blood-sucking transmitter are not virulent for human beings. In any case this is a question in itself, but under no circumstances will it be possible to find bona-fide and logic arguments to displace the evidence of facts acquired by observation and experiment.

It was along these lines, that I started a new phase of my work by searching for trypanosomes in those patients for whose disease I had found no interpretation.

At first all attempts gave constantly negative results a fact which was later explained by the absence of parasites

in the peripheric circulation and their existence in the tissues of these patients. My observations were made in human dwelling-places abundantly infested by triatomata. In one of these I found a cat evidently ill and in whose blood upon examination, was found *Trypanosoma Cruzi*. This did not, however, allow of a definite conclusion, since the cat, being a domestic animal, passes the night in human dwelling places and is consequently exposed to being sucked by the insects, so that its infection could be no surprise. And besides, from later examinations I came to the conclusion that the cat is a reservoir for trypanosomes, and for this very reason a factor in the spreading of the disease.

Pursuing my work, and I must admit I did it with a well-founded certainty of success, I had the chance of finding in a feverish condition a child from the house in which I had found the infected cat. Now, a fortnight or twenty days before, I had spent a night in the house and had seen a great number of insects stinging the dwellers including the little girl who now lay feverish and who at the time had been in perfect health.

Among the chief clinical symptoms of this child, whose fever had come on some eight or ten days before examination, where the following: Axillary temp. 40°C.; spleen enlarged and to be felt under the edge of ribs; liver also enlarged; groups of peripheric lymphatic glands swollen etc. Most noticeable was a generalised infiltration, more pronounced in the face, and which did not show the characters of renal œdema but rather of myxœdema. This last symptom, which I later found to be one of the most characteristic of the acute form of the disease, already then revealed some functional alteration of the thyreoid gland, perhaps affected by the pathogenic action of the parasite.

Examination between cover-glass and slide revealed the existence of flagellates, in good number and the fixing and staining of blood-films made it possible to characterise the parasite's morphology and to identify it with Trypanosoma Cruzi, first seen in crithidia-form in the intestine of *Triatoma* and transmitted by the sting and by inoculation of the flagellates taken out of the intestine, first to the monkey Callithrix *(Callithrix penicillata)* and then to several small laboratory animals.

Thus was proved the existence of a new trypanosomiasis of man. This was the second one known; its parasite showed well defined morphologic and biologic characters distinguishing it from any other known trypanosome. The transmitter of the new disease as shown by undeniable laboratory experiments was a heteropteron of the genus triatoma, *Triatoma megista.*

There remained now to be carried through careful studies as to the pathogenesis, symptomatogy epidemiology and geographic distribution of the new disease which I had discovered in its acute form. Was it always like this or did it show well-defined chronic forms? My clinical experience and knowledge of the unusual diseased condition of local inhabitants led me to admit that in this trypanosomiasis, besides the known acute form, other chronic ones awaited detection and description.

I was only able to take up again these researches some months later, with the clinic and epidemiologic problems of the disease, up to then almost entirely obscure, now as my object. In this also my knowledge of the local nosology, in which I had come upon conditions impossible to understand, was of great use to me. Returning to the study of the disease with a better grasp of the problem, I tried to systematise the facts so as to get a starting-point for possible generalisations. Among the symptoms what most impressed me was the fre-

quency of alterations in the rhythm of the heart-beat among the local inhabitants especially among those who lived in *triatoma*—infested houses. This was extremely common and generally took the form of extrasystoles frequently with slow pulse. I must mention that in view of the anatomical alterations of the thyreoid commonly observed in these patients, either as a great hypertrophy or as an almost inappreciable enlargement of the gland, I at first believed these cardiac perturbations to be ascribable to goitre.

Soon, however, I made sure that patients showing an unrhythmic heart-beat had not infrequently a normal thyreoid. About this time I got the opportunity of practising a post-mortem on a child in whom I had diagnosed the acute form of the disease with trypanosomes in the peripheric circulation. The material I obtained I sent to the Instituto Oswaldo Cruz where it was examined by the regretted GASPAR VIANNA, whose high technical ability and great competence in the field of pathological anatomy were of the greatest help to us.

GASPAR VIANNA described, within the cardiac fibres of the child's myocardium some very curious parasitical forms, very numerous and taking the form of actual kysts. Similar aspects of the parasite were observed in other organs.

There was at the time, as I heard from OSWALDO CRUZ, some doubt as to the interpretation of there parasitic forms, VIANNA believing them to be special stages of *Trypanosoma Cruzi*. All doubts were dispelled, however, when, at Lassance, OSWALDO CRUZ, showed me sections and smears from the myocardium, in which I recognised parasitic forms identical to those I had obtained in artificial cultures of the trypanosome. No doubt could be left over, therefore, as to VIANNA's observations of the localisation of the trypanosome, under a special form in the myocardium, within the muscle-fibres. This furnished the acceptable interpretation to one of the most frequent clinical symptoms of the disease, disturbance of the rhythm of the heart. The histopathological results of the first autopsy were so interesting that OSWALDO CRUZ decided to become better acquainted with my work and made with this purpose the fatiguing journey to the interior of Minas Geraes where he remained for a week in the enthusiastic appreciation of the clinical cases and experimental facts which were opening a new chapter in human pathology.

I must here allude to a cause of error in the first laboratory work for the diagnostic of the disease.

In the earlier studies on *Trypanosoma Cruzi* I had connected with the evolutive cycle of the trypanosome in vertebrates, special forms found with great frequency in the lungs of infected guinea-pigs. It was from this interpretation, in which I had the assent of PROWAZEK and MAX HARTMANN, that came the forming of the genus *Schizotrypanum* in which to place the new species of parasitic flagellates. In view of this observation I for some time made use of these forms founds in the lungs of the guinea-pig as a factor in the diagnostic of patients whose blood had been inoculated in guinea-pigs. It was later observed, first by Prof. CARINI and DELANOE and then by some research-workers of the Institute, that the parasitic forms from the lungs of the guinea-pig hady nothing to do with *Trypanosoma Cruzi* and were really another parasite, *Pneumocystis*. This parasitologic diagnostic was thereby rendered valueless and we had to base on other grounds our opinion regarding the chronic forms of the disease. Numerous post-mortems in which the parasites were seen localised

in different organs and the lesions for which they are responsible amply justified the clinical diagnostic of the different forms of the disease by establishing beyond doubt its cause.

But to proceed to the detail: Of the acute forms of the disease, characterised by the easily observed existence of the trypanosome in the peripheric circulation within a short period. I obtained several clinical observations to which no objection can be made.

As to the chronic forms, my conclusions were no less conclusive, based as they were on a great number of post-mortems with parasitological and at the same time histo-pathological study. Of the clinical cases in which cardiac symptoms dominate, I quickly obtained a great number of observations and also several post-mortems. In the latter the uniformity of the lesions of the myocardium and the constant occurrence of the parasite in it founded on anatomical reasons the diagnostic of chronic cases, carefully studied while alive. The clinical diagnostic of these lesions became one of the characteristics of the new disease. Recent researches of CROWELL prove that the cardiac lesions in american trypanosomiasis can be recognised independently of the finding of trypanosomes and are to be considered as a well characterised specific lesion.

Contrarily to what those who say we only know a few cases of american trypanosomiasis, a patient with dominant cardiac symptoms is, according to the acceptation of the disease, infected with *Trypanosoma Cruzi:* besides the rhythm other symptoms indicating lesions of other organs can be found. And judging the number of cases by the cardiac forms our opponents would certainly admit that there has been no exaggeration in estimating as very high the number of endemic cases.

The ascertaining of the nervous forms was also based on clinical observation and post-mortem findings of undoubted value. The numerous cases of cerebral diplegia, of organic idiocy, of monoplegias, of aphasias etc., observed in the regions where we worked had long since impressed me. The first supposition of syphilis to which these lesions might have been attributed was quickly dispelled by all clinical and laboratory methods of syphilis-diagnostic. And contrarly to the fallacious tradition, this disease is an extremely rare occurrence amongst the inhabitants of the interior, where it is taken only by new comers from more civilised and contaminated zones. In another publication we will speak of this subject proving that in the remote zones of the interior syphilis remains unknown unfil it is introduced with the advent of the railways.

Could the nervous phenomena be attributed to endemic cretinism as KRAUS later proposed? Certainly not, since under the most strenuous observation, they were far from showing, what several authors have considered to be the classical nervous manifestations of cretinism. And this is not a question to solve by hypotheses but rather by the surer methods of pathological anatomy.

The first post-mortem was carried out on a case of cerebral diplegia that had lasted for 22 years. According to information given by the family, the subject had been paralytic since she was 3 years old and had suffered from organic idiocy with excitable phases. Death ensued from accidental burning. Autopsy showed the existence of trypanosomes and well defined cerebral lesions distributed in foci. Histo-pathological studies carried out by GASPAR VIANNA left no doubt as to the etiological cause of the nervous phenomena studied. After this, other post-mortems followed and among them those of cases of acute me-

nyngo-cephalitis in which the seat of the parasite in the brain and the lesions produced amply justified the recognition of a nervous form of the disease, casting light on numerous obscure points of the local nosology.

This precludes the basing on sound scientific reasoning of the denial of nervous forms of the disease, with disturbances affecting motility, intelligence, speach etc. and the great number of cases of paralysis, organic idiocy, aphasia, observed in *triatoma*—infested regions cases which reproduce the symptoms of those which were submitted to post-mortem examination, and must consequently be attributed to the same etiological cause. As an additional confirmation of this way of thinking, experiments made by EURICO VILLELA and MAGARINOS TORRES elicited paralyses in dogs and monkeys with the consecutive finding of the trypanosome and lesions in the central nervous system.

Infantilism and other dystrophies frequently seen in the regions where the disease is endemic, I ascribe to infection by *Trypanosoma Cruzi*, either as a residual form from infection in first childhood or what is still more probable as a consequence of hereditary infection. Are there any reasons wanting for conviction? How but by logical deduction from facts has syphilis been connected with infantilism? *Trypanosoma Cruzi* like the treponeme is found localised in the different organs of the endocrinic system whose rôle in the general phenomena of development: os no longer contested. In the adrenals of man and of experimentally infected animals for instance, the trypanosome and the lesions it produces have been amply demonstrated. The same, as regards testicles, ovaries and the thyreoid gland. And if these react, as has been observed, it is logic to admit the physio-pathological consequences of these anatomical alterations. Here also recent experiments of EURICO VILLELA are being of great value. E. VILLELA observed new-born puppies of an infected mother wither hereditary cephalitis and trypanosomes.

This subject, which needs detailed explanation, cannot be gone into fully in this work, in which I only desire to outline the essential motives for my convictions concerning infantilism and other dystrophies of the regions in which trypanosomiasis is endemic.

In the first phase of our work we took trypanosomiasis to be the cause of the *endemic goitre of the regions where the disease prevails*. The reasons we had were based, some of them on the pathogenesis, others on the epidemiology and geographic distribution of trypanosomiasis. At first, the frequency of goitre or of a simple alteration in the thyreoid with partial hypertrophy of some of its lobes in patients with other symptoms called my attention. What further impressed us was the infiltration observed in all acute cases and having the characters of myxœdema. This was a constant symptom in the the first phase of the infection, and was to be considered as a myxœdematous infiltration peculiar to trypanosomiasis and expressing the part the thyreoid played in the pathogenic process. Posterior examinations on acute cases showed the seat of the trypanosome in the gland, right inside the vesicular cells, and also showed the inicial reaction-processes that characterise the formation of the stroma. Furthermore a prolonged observation of some patients, from the acute phase, permitted to follow the progressive development of the goitre, which in some subjects attains a considerable size, while in others it limits itself to hypertrophy, complete or partial, of the thyreoid. The absolute absence of goitre in acute cases and the existence of it in children of the same age that might have got infected earlier were another argument

in favour of this way of thinking. Other reasons were of a pathogenic and epidemiologic order. Regarding the geographical distribution of goitre my experience like that of my informers, was that goitre was constantly seen in *triatoma*—infested regions and unknown in those where the insect is not found. And in the regions where we studied, persons, among them children, without any hypertrophy of the thyreoid and living in houses in which there where no triatomata where common whilst those living in infested houses all showed goitres or hypertrophied thyreoid glands. The high percentage of goitre in the rural huts, even in the ones round the cities and the absence of any lesions on the glands of the towns and villages the people dwelling in good houses, which do not offer the *barbeiro* favourable conditions for its proliferation, cannot fail to strike one. The factors usually held to be responsible for endemic goitre, among them the drinking-water, were excluded in this case seeing that both the persons who had goitres, chiefly the children, and the persons who living under the same conditions, using the same food, had no goitres and lived in houses in which there were no triatomata. These facts as well as many others which I do not refer to in this work, lead me to consider the goitre as one more element of the disease *in trypanosomiasis—regions*. And up to now no definitive proof to modify our point of view in regarding the goitre as part of trypanosomiasis in the parts of the country in which this disease is prevalent. Yet, as we cannot give a positive demonstration for this as we gave for other aspects of the disease in 1916 at the time we were synthetising the pathology of the disease, we will consider the goitre a question apart, on the subject of which there may exist diverging opinions. And on this footing we stand as regards this discussed point, while we await research-*w*ork *w*hich will displace our way of thinking or will confirm it in a positive way.

Of late there has been a tendency, with a view to admitting the infectiousness of goitre, towards attributing the goitre to a filterable virus. And here I must point out that I think it absurd to consider only one etiologic cause of goitre, seen in different parts of the world and having very varied physio-pathological consequences.

Concerning opinions on the etiology and pathogenesis of goitre, and specially in trypanosomiasis as its cause I might give some lengthier arguments based on the epidemiology and geographic distribution and based also on the physio-pathology of endemic goitre in the regions in which I studied it. I will, however, return to the subject in later publications.

Serum against the Epithelioma or Diphtheria of Birds

by

Dr. H. Marques Lisboa.

Concerned for more than ten years with the study of various diseases, caused by filterable germs, of more special interest to veterinary medicine, I became convinced that these germs form a quite homogeneous group, the important characters of which are to be found in the conditions of parasitism and may be considered in a synthetical manner in the following way:

1º. All filterable germs are obligatory parasites, that is may only manifest vital activity when inside a host, although able to remain, in a state of latent life, outside the organism. The cultures, which may sometimes be obtained in special culture media, are short-lived and therefore are not to be found amongst the collections of the most prominent institutes of research however complete they may be.

2º. They are very exacting as to the choice of their host: hog cholera is exclusively confined to porcines, foot-and-mouth disease can be transmitted easily only to artiodactyla, and contagious epithelioma even presents difficulties with regard to its transmission from one species of birds to another.

3º. In the cases were they are not observed to be so particular (rabies, cow-pox etc.) the germs are more liable to undergo mutations: *virus fixe*, vaccines, etc. The race thus obtained has vaccinating properties, and no other method for obtaining vaccines can be applied, seeing that the methods used for attenuating bacteria usually prove very unsatisfactory in this case.

4º. The morbid symptoms which they cause are usually intensified by association with bacteria generally of small pathogenic activity: for instance a paratyphus bacillus or a pasteurella plays a role in the pulmonar or intestinal form of hog-cholera (swine-plague); in pox a streptococcus, in the epitheliothelioma of birds a staphylococcus, and so forth.

5º. The attack the organism suffers, when it does not prove fatal, causes immunity, at times of a very lasting kind, as in pox, epithelioma of birds, yellow fever, etc., at others of very short

term, as in the case ot foot-and-mouth disease.

6°. The animal species, which are sensitive to the germ, produce sera of a very real preventive value: thus serum active against foot-and-mouth disease can only be obtained from cattle and porcines; serum against hog-cholera only from sheep, and so forth.

This last character is one of those which are still rather uncertain in medical and veterinary litterature; it is in this way that, in the case of the contagious epithelioma of birds, the conclusions are categoric and deny the serum any preventive or curative properties. To sustain this last assertion, i. e. "that sensitive species produce a preventive serum", the first indication was to control the experiments of other research-workers on this subject, by repeating them, avoiding causes of error which might have left margin for the obtaining of negative results. That was the reason for the undertaking of this work.

Research work carried out at our Station showed that, here as elsewhere, these errors had been of dual nature; insufficient doses and a pseudo-superimunisation.

A) *Insufficient Doses.* There is a general tendency to carry out the investigation of sera with insufficient doses, a fact which frequently leads to the denying of any value to antibacterian and antitoxic sera of great curative value, such as the one against bubonic plague, tetanus, etc. In the cases of the filterable germs MOUSSU, in preparing serum against foot-and-mouth disease by injections of virulent blood, obtained a serum certainly efficacious, but tried its effect with 50 cm³ which in this case must surely have corresponded to one third of the efficient dose. On the other hand, when the research-workers use considerable doses the results are positive in foot-and-mouth disease as in diseases produced by other filterable germs, unless another cause of error intervenes.

In vaccination, REYNAUD, among others, was able to immunise calves with 250 cm³ of a convalescent's serum; and STRAUSS, CHAMBON and MÉNARD, with more or less a litre. (Possibly an intense super-immunisation might reduce this dose to its tenth part; in another publication we will return to the subject). KUNIO SATA ascertained the formation of antibodies in rabbits inoculated either cutaneously or in the cornea.

In sheep-pox, DUCLERC immunised the animals with 190 cm³ of cured sheep's serum and BORREL was even able to obtain serum of practical use, immunising with a dose of 15 to 20 cm³.

In foot-and-mouth disease, various research workers verified that the serum of animals, that had recovered from the disease, immunised at the dose of a litre and LOEFFLER, super-immunising cattle, reduced the preventive dose to 100 to 150 cm³, a dose which can be further reduced to less than 80 cm³ without concentrating the serum.

In Cattle Plague, a few hundred centimetres of the serum of a convalescent animal are already of use in the prevention of the disease, but KOLLE and TURNER, NICOLLE and ADIL BEY and others, by means of superimmunisation, reduced this dose to about 20 cm³.

In hog-cholera, the serum furnished by superimmunised animals is of the most potent kind since it prevents infection when employed in doses of less than 10 cm³, but as in the case of all the other sera against filterable microorganisms, its curative properties are practically non-existent, and only demonstrable by the use of enormous doses right in the beginning of the disease.

In chicken pest, JOUAN and STAUB were able to immunise chickens with less than 1 cm³ of serum obtained from chickens.

In rabies (hydrophobia), BABES was invariably able to protect dogs by means of serum obtained from dogs; MAGALHAES was able to protect oxen with ox serum (unpublished work carried out at the Experimental Station of Bello Horizonte, Minas Geraes). Homologous sera are, as LOEFFLER and others had already ascertained, always more potent than heterologous ones.

In the case of diseases exclusively affecting man, the verification is more difficult as it entails superimmunising convalescents, however:

In poliomyelitis acuta, FLEXNER and LEWIS, LEVADITI and LANDSTEINER cured monkeys with the sera of convalescents and of superimmunised monkeys; NETTER, GENDRON and TOURRAINE, NOBE'COURT and DARRE', FLEXNER and AMOSS obtained favourable results in patients on whom they employed big doses of the serum of convalescents;

In small-pox, PROWAZEK and ARAGAO indicated the efficacity of twelfth-day serum against the virus; superimmunisation would certainly give more positive results.

In yellow fever, MARCHOUX, SALIMBENI and SIMOND ascertained that the serum of convalescents is endowed with undeniable preventive properties and perhaps even with some therapeutic ones.

In scarlet fever, EMIL REISS besides others, obtained good results, even in unfavourable cases, by injecting intravenously 100 cm^3 of convalescent's serum before the fourth day of illness.

B) Pseudo-superimmunisation, i. e., the collecting of serum of patients while they are still ill.

The virus-carriers or rather the persons that eliminate or expel virus *(Virusausscheider)* appear to be ill in all cases, even if the chronic symptoms should be of little account. This fact observed by different authors in the case of foot-and-mouth disease, is easily seen in the case of epithelioma of birds.

A fowl apparently recovered from the illness, nourishing itself plentifully, laying eggs, is considered completely recuperated; on the other hand, if we put it under close observation, we can notice that every now and then it shows a brief shaking of the head. This fowl suffers from a slight chronic coryza, and both the cerebro-spinal fluid and the blood are infectious. In such a case one may think of an *immunitas non sterilisans,* seeing that one obtains an infectious serum.

In order to verify the uncertainties pointed out, several studies were undertaken at the Station. The results obtained with the epithelioma or diphtheria of birds, which offers greater facilities for experimental work may already be published.

———

When one has to deal with a great number of chicks and fowls infected with epithelioma, one can no longer doubt its identity with the diphtheria of birds.

Not only do all the chicks show more or less marked symptoms of diphtheria in the period to which death ensues, but it is also frequent for diphtheric patches to appear in the course of the development of the epithelioma; besides this it is not altogether uncommon for inoculations to call forth only diphtheria. In fowls subcutaneous or intraperitoneal inoculations of big doses of epithelioma usually provoke diphtheria.

Besides this proof based on inoculation, which had been previously studied by S. VON RATZ and by UHLENHUTH and MANTEUFFEL (1910), the serological proofs which I will publish later, confirm this assertion, although MANTEUFFEL did not obtain any therapeutic results by inoculating 5 cm^3 of the

serum of immune fowls, which is not to be wondered at.

The preparation of anti-epithelioma-tous serum, as it is being carried out, consists in triturating material from epithelioma in a stone mortar, straining it through muslin and filtering it through paper, this being a technic similar to the one we employed in preparing serum against foot-and-mouth disease and other sera which are being worked upon. In the case that was being studied I avoided, in opposition to the one of foot-and-mouth disease, intravenous injections, although I consider them the best for superimmunisation, because in the case of fowls its difficulty renders it unpracticable; I preferred, therefore, intraperitoneal inoculations.

To avoid virus-carriers, I resolved to take only not very young fowls in big lots and to carry out a first test-inoculation on them. Although using birds that by their ages should have had chances of infecting themselves before, I was constantly obliged to set aside more or less 50%, because they would either acquire a marked diphtheria, or else because they would manifest the chronic coryza to which I have referred.

The birds, which in the course of a week show no symptoms of disease, save a slight green diarrhœa, are isolated for superimmunisation. This is done according to the general technic which we adopt in current practice for the preparation of serum against the filterable germs, with the alterations in dose and mode of inoculation required by the case, viz. ;

1rst Inoculation (Test Inoculation) Hypodermic injection of 0,1 gr. of the substance of the skin localisations *(boubas)* triturated and dissolved in physiological saline solution, filtered through muslin and through filter-paper.

2nd Inoculation; in the peritoneum, of 0,5 gr. of the substance of the skin localisations properly triturated, diluted and filtered.

3rd Inoculation; intra-peritoneal inoculation of 1 gr. of the material referred to.

4th Inoculation; intra-peritoneal inoculation of 2 grs. of the material referred to.

5th Inoculation; intra-peritoneal inoculation of 4 grs. of the material referred to.

Superimmunised fowls are killed on the tenth day after the fifth inoculation. The serum should be used the same day, as the preservation of it by means of Carbolic Acid (Phenol) produces in young chicks convulsions sometimes causing death and a great irritation at the site of inoculation. The Assistant-Chemist of the Station, BAETA VIANNA, purposes to obviate this drawback by substituting this chemical substance and besides by concentrating the serum through reduction of volume.

The chicks chosen should be very young in order to avoid the ones that should have become immunised by a previous attack of the disease.

Chicks of more than three months of age are already more resistant to infection and older ones and adults still more so; the latter recover without treatment.

After various tentative experiments I ascertained that a dose of 2,5 cm^3 already protects, when inoculated previously and, at times even when inoculated shortly after the virus.

The following tables are résumés of the more recent experiments:

1rst Series.

Chicks one month of age inoculated with 2,5 cm^3 of antiepitheliomatous serum.

1.—Inj. 5 minutes after virus (rubbed in on the head)..... Did not suffer
2.— « 10 « « « « « « « ..... † (death)
3.— « 15 « « « « « « « ..... †
4.— « 20 « « « « « « « ..... †
5.— « 25 « « « « « « « ..... †
6.—Inoculated only with the material from skin lesions (bouba)..... †

Only the chick injected 5' after the virus did not suffer, all the others died within 33 days. Chicks 4 and 5 had enormous skin localisations *(boubas)* the remainder smaller ones.

2nd Series.

Chicks one month of age inoculated with 3 cm^3 of antiepitheliomatous serum and spleen extract.

7.—Inj. 15 minutes before virus (rubbed in on the head)..... Nothing
8.—Id..... Id
9.—Inj. 15 minutes after virus..... Id
10.—Id..... †
11.—Inj. 1 hour after virus..... †
12.—Id..... †
13.—Inj. of spleen extract one hour afterwards..... †
14.—Id..... †
15.—Inoculated only with virus..... †
16.—Id..... †

Chicks having been subjected to injection before the inoculation of virus (rubbed in on the head) did not get infected; even injection 1/4 hour after inoculation would only protect one of the two chicks inoculated; from this point on the protective activity was non-existant. Chicks 11 to 14 only showed diphtheric patches, the remainder skin localisations *(boubas)*.

3rd Series.

Chicks two months old inoculated with 4 cm^3 of antiepitheliomatous or normal serum.

17.—Inj. 2 hours before (2 cm^3) and 1 hour before (another 2 cm^3)..... Did not suffer
18.—Id..... Id
19.—Id with normal chicken serum..... skin localisation (Bouba)
20.—Id. Id..... skin localisation (Bouba)
21.—Inoculated only with virus (rubbed in on the head).. skin localisation (Bouba)

In this experiment also the serum showed an absolute value as a preventive.

Fourth Series.

Chicks of a little more than two months of age inoculated with 2,4 and cm^3. of antiepitheliomatous or normal serum.

Preventive Injections (Antiserum).

22.—Inj. of 2 cm^3 24 hours before virus (hypod. inj.)..... skin localisation (Bouba)
23.—Id..... Did not suffer
24.—Inj. of 2 cm^3 24 and 21 hours before virus..... (Total 4 cm^3) Did not suffer

25. – Id. ..... Did not suffer
26. – Id. ..... Did not suffer
27. – Id. ..... Did not suffer
28. – Inj. of 2 cm³ at 24, 21 and 18 hours before virus..... (Total 6 cm³) Did not suffer
29. – Id ..... Did not suffer
30. – Id. ..... Did not suffer
31. – Id. ..... Did not suffer

Preventive Injections (Normal Serum).

32. – Inj. 2 cm³ of normal serum 24 hours before virus... skin localisation (Bouba) †
33. – Inj. 2 cm³, 24 and 21 hours before virus (Total 4 cm³) skin localisation (Bouba)
34. – Id ..... skin localisation (Bouba)
35. – Inj. of 2 cm³ 24, 21 and 18 hours before virus (Total 6 cm³) skin local. (Bouba)
36. – Id. ..... skin localisation (Bouba)

Curative Injections (Antiserum).

37. – Inj. 2 cm³ immediately after hypod. inj. of virus..... Nodules
38. – Id. ..... skin localisation (Bouba)
39. – Inj. 2 cm³ plus 2 cm³ after inj. of virus..... Nodules
40. – Id. ..... Nodules
41. – Id. ..... Nodules
42. – Id. ..... Nodules
43. – Inj. 2 cm³, plus 2, plus 2 after inj. virus..... Nodules
44. – Id. ..... Nodules
45. – Id. ..... Nodules
46. – Id. ..... Nodules

Preventive Injections (Normal Serum).

47. – Inj. of 2 cm³ immediately after the inj. of virus..... skin localisation (Bouba)
48. – Inj. of 2 cm³ plus 2 cm³ after the inj. of virus. (total 4 cm³) skin local. (Bouba) †
49. – Id ..... skin localisation (Bouba) †
50. – Inj. of 2 cm³, plus 2 cm³, plus 2 cm³ after virus..... skin localisation (Bouba) (killed)
51. – Id. ..... skin localisation (Bouba) †
52. – Id. ..... skin localisation (Bouba)

Controls.

52. – Inoculated only with virus..... skin localisation (Bouba) †
53. – Id ..... skin localisation (Bouba) †
54. – Id. ..... skin localisation (Bouba)
55. – Id. ..... skin localisation (Bouba)
56. – Id. ..... skin localisation (Bouba)

Chicks do not tolerate injections of more than 2 cm³ to 3 cm³, therefore in this series the injections of 4 to 6 cm³ were made in two or three times at intervals of approximately three hours.

The nodules observed in the abdomen (site of the injection of serum in chicks of numbers 38 to 46) appear to have been due to the carbolic acid needed to preserve the serum; this was not observed in the chicks of lower numbers, injected with fresh serum, nor in the controls treated with normal serum, also in fresh condition.

Here, once more, the preventive va-

lue of the serum was complete, when the serum was used in the dose of 4 to 6 cm^3.

We may therefore conclude that serum against the epithelioma of fowls may be easily obtained provided that;

1° the superimmunised fowls support the inoculations without morbid manifestations, even slight ones (chronic coryza, for instance).

2° the activity of the immunising serum be verified with high doses with regard to the weight of the animal that is to be protected against infection.

The simple passage of the virulent material through muslin and filter paper might, at first sight, seem to prejudice the experime but I had no intention of demonstrating in any way the filterability of the germ of the diphtheria of fowls; this had already been brilliantly done by great research-workers; my purpose was to show that fowls superimmunised with virulent material furnish serum against a disease produced by a filterable germ that seemed to elude the general principal that; *The filterable germs produce, as a rule, preventive serum when inoculated in a proper manner in animals sensitive to the disease which they provoke.*

Bello Horizonte, May 21rst, 1922.

Beitrag zur Kentnis der Gregarinen (1)

von

Dr. med. CESAR PINTO

(Taf. 1—6).

Einleitung.

Nachfolgende Arbeit ist das Ergebnis von Untersuchungen, die im Monat September 1917, unter Leitung der Assistenten Dr. OLYMPIO DA FONSECA jun. und Dr. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, im Instituto Oswaldo Cruz begonnen wurden. In zwoelf vorlauefigen Mitteilungen, welche im Jahre 1918 im «*Brazil Medico*» erschienen, beschrieb ich 16 neue Arten von Gregarinen und stellte zwei neue Gattungen auf, eine derselben fuer eine bereits bekannte Art, die andere fuer eine der neuen Gregarinenformen. Ausserdem gab ich die Wiederbeschreibung zweier bereits bekannter Gregarinen, bei welchen ich einige Charaktere beobachtete, die den früheren Beschreibern entgangen waren. Die Zahl der von mir untersuchten Arthropoden erreichte 471; sie wurden in Leme und Manguinhos, in der Umgegend von Rio de Janeiro, waehrend verschiedener Jahreszeiten gesammelt. In Myriapoden, welche von Dr. OLYMPIO da FONSECA waehrend einer wiessenschaftlichen Expedition am Rio Paraná, im Staate São Paulo, gesammelt und untersucht wurden, fand ich nur zwei, bereits bekannte Gregarinenarten, *Stenophora juli* und *St. cockerellae*.

Erst nach zehnmonatlichen Untersuchungen gelang es mir, von einer einzigen Gregarine den Entwicklungszyclus festzustellen, da die Sporen dieser Protozoen immer sehr selten waren, obgeich die Arthropoden in verschiedenen Jahreszeiten untersucht wurden. Das einzige Tier, welches eine grosse Zahl von Sporen aufwies, war ein Oligochaete *(Glossoscolex wiengreeni)*, der von Dr. OLYMPIO DA FONSECA in der Umgegend von Rio (Gavea), gefunden wurde. Ich benutzte die grosse Zahl von Sporen der *Monocystis perforans* PINTO, 1918, welche im Gewebe des Testikels, im Coelom und in den Faeces gefunden wurden, um die Bildung der Sporozoiten *in*

(1) Preisgekrönt von der Medizinischen Fakultät in Rio de Janeiro mit dem "Gunning-Preis" fuer Naturgeschichte.

vitro zu beobachten, was relativ leicht gelang.

Brasilianische Literatur.

Ich kenne nur eine brasilianische Arbeit ueber das vorliegende Thema; dieselbe wurde von Professor PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES in den «Archives de Parasitologie» (Paris, 1900) veroeffentlicht. Neuerdings publizierte Dr. GUSTAVO HASSELMANN, Professor an der Landwirtschaftlichen Schule, im «Brazil-Medico» fuenf vorlaufige Mitteilungen ueber Sporozoen und beschrieb einige neue Gregarinenarten; ueberdies studierte er eingehend den Entwicklungszyklus dieser Protozoen.

Technik.

BESCHAFFUNG DES STUDIENMATERIALS: Von wirbellosen Tieren sind Arthropoden, Anneliden, Mollusken, Echinodermen etc. die haufigsten Wirte von Gregarinen. Von Gliedertieren ist eine Schabenart, *Stylopyga americana,* hier am leichtesten zu beschaffen und enthaelt die folgenden Arten: *Gregarina blattarum* (von Sieboldt), *Protomagalhaensia serpentula* (Magalhães, 1900) und *Gregarina légeri* Pinto, 1918.

Nachdem die Wirte durch Chloroform oder Aether getoetet wurden, nimmt man den Darm heraus und eroeffnet ihn in seiner ganzen Laenge mit einer geeigneten feinen Schere. Man kann dann haeufig mit blossem Auge kleine weissliche Staebchen unterscheiden; dieselben werden zusammen mit dem Darminhalt in eine Pipette aufgenommen und dann bei schwacher Vergroesserung untersucht (Obj. A Zeiss). Nachdem die Gegenwart der Gregarinen im Darme des Wirte festgestellt ist, wird derselbe fixiert, in Paraffin eingebettet und in Schnitte zerlegt, in welchen man die intrazellulaeren Gregarinenformen sucht.

Mikroskopische Praeparate.

Man untersucht in frischen oder gefaerbten Praparaten; letztere wurden nach der Methode von HEIDENHAIN oder mit Haematoxylin (nach DELAFIELD oder HANSEN) hergestellt. Die Darmschnitte, welche intrazellulaere Formen aufwiesen, wurden ebenso nach HEIDENHAIN gefaerbt, was immer gute Resultate gab. Beim Studium der Systematik ist es besser, die Gregarinen lebend zu zeichnen, da sie sich bei der Fixierung und Faerbung in Folge ihrer ungewoehnlichen Dimensionen oft in Fragmente aufloesen.

Studium der Brasilianischen Gattungen und Arten.

Waehrend meiner Untersuchungen ueber brasilianische Sporozoen stellte ich das Vorkommen von sechs Gregarinengattungen fest. Zwei derselben wurden von mir aufgestellt. Beim Studium einiger Arten fiel es mir schwer, dieselben in bereits bekannte Gattungen unterzubringen; in Ermangelung einer genuegenden wissenschaftlichen Basis fuer die Aufstellung neuer Genera, habe ich einige Arten vorlaufig in der Gattung *Gregarina* Dufour untergebracht, bis die Stellung derselben durch weitere Studien genuegend aufgeklaert sein wird.

Polycystische Gregarinen (CEPHALINAE).

I. Fam. *STENOPHORIDAE* (LÉGER et DUBOSQ, 1904). PINTO, 1918.
a) Genus *STENOPHORA* LABBÉ, 1899.
b) Genus *FONSECAIA* PINTO, 1918.
II. Fam. *GREGARINIDAE* LABBÉ, 1899.
a) Genus *GREGARINA* DUFOUR, 1828.
b) Genus *PROTOMAGALHAENSIA* PINTO, 1918.
III. Fam. *ACTINOCEPHALIDAE* LÉGER, 1892.
a) Genus *BOTHRIOPSIS* SCHNEIDER, 1875.

Monocystische Gregarinen (ACEPHALINAE).

I. Fam. *MONOCYSTIDAE* BUETSCHLI, 1882.

a) Genus *MONOCYSTIS* STEIN, 1848.

Genus Fonsecaia PINTO, 1918.

Diagnose der Gattung: Polycystische Gregarinen mit intrazellulaerer Entwicklung, keine Syzygien bildend. Glatte Sporocysten von laenglich elliptischer Form, ohne Aequatoriallinie und Endosporocysten. Nicht zu Ketten vereinigt. Epimerit sehr reduziert, ohne Endoplasma. Parasitisch in Diplopoden. Cysten unbekannt.

Dieses Genus gehoert zur Familie *Stenophoridae* LÉGER und DUBOSQ, 1904, deren Diagnose ich modifizierte, um ihr Arten einzureihen, welche weder Aequatoriallinie, noch Endosporocysten aufweisen.

Typische Art des Genus: Fonsecaia polymorpha PINTO, 1918.

(Tafel. 1, Fig. 1—17).

Dimensionen: Runde Form (Fig. 2 und 3): Gesammtlaenge 30 mikra; Laenge des Protomeriten 8, Breite 11 mikra; Laenge des Deutomeriten 24 mikra.

Intermediaere Form (Fig. 4 bis 9); Gesamtlaenge 100 mikra; Laenge des Protomeriten 10 mikra; Breite 14; Deutomerit 48 mikra breit.

Sporont (Fig. 17): Gesammtlaenge 170 mikra; Protomerit 15 mikra lang, 18 mikra breit; Deutomerit 80 mikra breit. Durchmesser des Kerns 10 mikra, des Karyosoms 3 mikra.

Dimensionen der Sporen (Fig. 1): 18 mikra Laenge bei 8 Breite. Verhaeltnis der Dimensionen des Sporonten (Fig. 17): Die Laenge des Protomeriten verhaelt sich zur Gesammtlaenge der Gregarine wie 1:11,3, die Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten wie 1 zu 4,4. Breite des Protomeriten zur Laenge desselben wie 1 zu 1,2.

Beschreibung: Fonsecaia polymorpha zeigt zwei verschiedene Typen, bei denen Zwischenformen vorkommen. Es sind dies ein runder (Fig. 2—3) Typhus, anscheinend ohne Epimerit und ein langer Typus (Fig. 4—17) mit fast konstantem, jedoch zuweilen rudimentaerem Epimeriten.

Runde Form (Fig. 2 — 3) mit einem Durchmesser von 30 mikra und einem halbkugelfoermigen, 8 mikra langen und 11 breiten Protomeriten. Deutomerit fast immer vollkommen kugelig, mit ziemlich entwickeltem Epizyt und einem Durchmesser von zirka 24 mikra. Das Septum ist flach.

Lange Form (Fig. 4—17): Epimerit manchmal rudimentaer oder zuweilen ganz fehlend, immer ohne Endoplasma. Protomerit in abgeflachter Zylinder- oder Birnform. Septum zuweilen nicht erkennbar. Deutomerit bei den langen Formen manchmal ziemlich vielgestaltig. Zuweilen ist er zylindrisch und kann in einer Spitze enden, die immer abgestumpft ist; in anderen Faellen zeigt sein mittlerer Teil eine Erweiterung, die sich nach beiden Enden verschmaelert, oder diese Erweiterung ist nach einem der beiden Enden verschoben, so das einer der verschmaelerten Teile laenger wird, als der andere, und der Parasit eine Flaschenform zeigt (Taf. 1, Fig. 12).

Abgesehen von solchen individuellen Variationen des Deutomeriten kann bei demselben Exemplare durch sine zirkulaere Kontraktion der Myonemen eine Einschnuerung auftreten, die sich nach der einen oder anderen Richtung verschieben kann (Taf. 1 Fig. 7). In den von mir beobachteten Sporonten war der Deutomerit eifoermig (Taf. 1, Fig. 17). Ich sah einen solchen Sporonten sich nach und nach einschnueren, bis er Birnform annahm (Taf. 1, Fig. 11) und an seiner Basis den sehr reduzierten Protomeriten zeigte.

Epizyt fast bei allen Exemplaren ziemlich dick. Myonemfibrillen unsichtbar, entweder nur im vorderen und mittleren Teile oder in der ganzen Ausdehnung des Deutomeriten. Endozyt von brauner

oder gelblicher Farbe und mit einer Koernung, die im Deutomeriten immer dicker ist. In einem Exemplar beobachtete ich deutlich das Freibleiben von dieser Koernung im mittleren Teile des Deutomeriten, woselbst eine Aequatorialzone auftrat, in der nur Myonemfibrillen sichtbar waren. (Taf. 1, Fig. 17). Die Granulationen des Deutomeriten koennen sich in seinem mittleren Teile anhaeufen, so dass nur in der Naehe des Epizyten ein hyaliner Raum freibleibt (Taf. 1, Fig. 9).

Kern. Auch dieser Teil der Gregarine zeigt verschiedene Bilder. Bei manchen Exemplaren ist er in frischem Zustande unsichtbar; bei anderen erscheint er rund, mit oder ohne Karyosom von runder Form und wechselnder Groesse; er ist auch in frischem Zustande sichtbar. Manchmal ist er laenglich in Rosetten (Fig. 13) oder in Birnform (Fig. 14).

Bewegungen. Die runden Formen und die Sporonten zeigten keine Bewegung, dagegen sah ich bei mittelgrossen Exemplaren bald langsame, bald ungewoehnlich lebhafte Bewegungen. Die Gregarine bewegt sich immer in der Richtung ihrer Laengsachse und macht zuerst gewöhnlich einen kurzen Vorstoss, auf den sofort eine ruecklaeufige Bewegung folgt. Bei mittelgrossen Formen mit deutlichen Myonemen sah ich die Gregarine sich in der Mitte umbiegen und nach der einen oder anderen Seite verschieben. Die fast unbeweglichen Sporonten liessen niemals solche Bewegungen erkennen.

Zysten: Obgleich ich eine grosse Zahl von Diplopoden untersuchte, fand ich niemals Zysten.

Sporocysten sind bereits beschrieben.

Fundort des Wirtes: Militaerhospital, Jockey-Club, Rio.

Zeit: April 1918.

Wirt: Orthomorpha gracilis KOCH, 1847.

Vorkommen: Darm.

Stenophora cunhai PINTO, 1918.
(Taf. 6 Fig 87–88).

Dimensionen: Gesammtlaenge 250 des Protomeriten 50 mikra. Breite desselben 40, des Deutomeriten 30 mikra. Durchmesser des Kerns 20, des Karyosoms 10 mikra.

Verhaeltnis der verschiedenen Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge 1 zu 5; Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten 1:1; Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1,2.

Der Protomerit zeigt ein kugeliges Vorderende mit nachfolgender ringfoermiger Einschnuerung. Hinter dieser findet sich ein zweiter erweiterter Teil, gefolgt von einer zweiten Einschnuerung, die dem Septum zwischen Deuto- und Protomeriten entspricht. Am vordersten Teil des Protomeriten befindet sich eine Reihe von Zaehnchen.

Deutomerit zylindrisch, gekruemmt, am Vorderende mit einer Erweiterung, die derjenigen am Hinterende des Protomeriten entspricht. Epizyt von gleichmaessiger Dicke, die starkentwickelten Myonemfibrillen in Form einer Laengsstreifung deutlich erkennbar. *Endozyt* wasserklar, mit wenigen Koernchen am Vorder- und Hinterende.

Kern: Rund, mit einem grossen Karyosom in der Mitte und einer halbmondfoermigen Chromatinmasse an der Oberflaeche.

Wirt. Rhinocricus pugio Broelemann, 1902, (Gongolo).

Vorkommen: Darm.

Fundort des Wirtes: Leme, Rio de Janeiro.

Zeit: November 1917.

Stenophora lutzi PINTO, 1918.
(Taf. 2, 5 u. 6, Figs. 32–36; 82–85).

Freie Gregarinen, aus der Leibeshoehle des Wirtes zeigten eine Laenge von 15 bis 210 mikra. Gesammtlaenge des Sporonten 210, des Protomeriten 28 mi-

kra; Breite des Protomeriten im hinteren Abschnitt 28, des Deutomeriten 35 mikra; Laenge des Epimeriten 5, Breite desselben 8 mikra.

Verhaeltnis zwischen der Laenge des Protomeriten und der Gesammtlaenge der Gregarine 1:7,5; zwischen der Breite des Deutomeriten und des Protomeriten 1:1,2; Verhaeltnis zwischen der Breite und Laenge des Protomeriten 1:1.

Epimerit halbkugelig, bei den intermediaeren Formen konstant, bei den Sporonten meistens fehlend.

Protomerit zylindrisch, immer mit mittlerer Einschnuerung, manchmal vorne mit einem Rest des Epimeriten, der sich losgeloest hat.

Deutomerit zylindrisch, mit abgerundeter Spitze am Ende.

Epizyt biegsam, von gleichmaessiger Dicke.

Endozyt braun, am Proto-und Deutomeriten koernig und bei letzterem oefters am vorderen Ende dunkler.

Kern rund, gewoehnlich im hinteren Teile des Deutomeriten, mit rundem Karyosom in der Mitte.

Zysten und Sporen unbekannt.

Unterscheidung der Art: Die beschriebene Gregarine gleicht der *Stenophora dauphinia.* WATSON unterscheidet sich aber durch das Fehlen eines Porus und der Papillen am Vorderende des Protomeriten. Das Vorkommen eines Epimeriten, wie er bei *Stenophora lutzi* beobachtet wird, hat WATSON bei seiner Art nicht angegeben.

Wirt: *Rhinocricus* sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro. (Leme).

Zeit: November, 1917.

Stenophora cruzi. PINTO, 1819.
(Taf. 6, Fig. 89).

Dimensionen: Gesammtlaenge 400 mikra; Laenge des Protomeriten 30 mikra; Breite des Protomeriten 40 mikra; Breite des Deutomeriten 80 mikra; Kern: 10 mikra im Durchmesser.

Verhaeltnis der Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge 1:13; der Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:2, Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1,3.

Protomerit in abgestutzter Kegelform. Deutomerit zylindrisch, im vorderen Teile, nach hinten zu, schmaeler, mit abgerundeter Spitze. Bei dieser Art ist der Deutomerit immer gebogen. Epizyt gleichmaessig dick, mit klar durchscheinenden Myonemen, in einigen Teilen auch mit Falten von wechselnder Länge, die wie Furchen aussehen. Endozyt wasserklar, aber voll von kleinen Koernern, an den Seiten und and Ende deutlich vakuolaer. Protomerit mit Koernern, aber ohne Myoneme. Kern klein und rund.

Habitat: Darm. von *Rhinocricus* sp.

Fundort: Rio de Janeiro (Leme).

Zeit: Dezember, 1917.

Stenophora viannai PINTO, 1918.
(Taf. 6, Fig. 90—92).

Dimensionen: Gesammtlaenge 900 bis 1000 mikra; des Protomeriten 60 mikra; Breite des Protomeriten 70 mikra; des Deutomeriten 150 mikra; Epimerit 10 zu 30 mikra; Kern 30 mikra.

Verhaeltnis der Laenge des Protomeriten zur Gesammtlaenge 1:16,6 der Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:2,1; der Breite des Protomeriten zu seiner Laenge 1:1,1.

Epimerit: Am Vorderende des Protomeriten findet sich ein Epimerit in Form eines annaehernd zylindrischen Fortsatzes mit centralem Porus. Protomerit halbkugelig, mit ziemlich deutlichem Septum. Deutomerit zylindrisch, mit abgerundeter Spitze. Diese Gregarine ist ziemlich polymorph. Bei einigen Exemplaren spitzt sich der Deutomerit am oberen Drittel zu; beim Protomeriten ist das nicht der Fall: er behaelt fast immer diesselbe Form.

Kern: Dieser Teil des Protisten lenkt durch Form und Lage sofort die Aufmerksamkeit des Beobachters auf

sich. Er ist immer von laenglicher Form und liegt meistens quer am Deutomeriten oder in seiner Naehe. Epizyt von wechselnder Dicke. Am Rande des Septums ist er von ziemlicher Dicke und mehr noch am Rande des Porus des Epimeriten.

Endozyt: koernig, beim Deutomeriten von brauner Farbe, beim Protomeriten immer hell.

Wirt: Rhinocricus (sp).
Vorkommer: Darm.
Fundort: Rio de Janeiro (Leme).
Zeit: Februar 1918.

Stenophora polydesmi (LANKESTER, 1863) WATSON, 1916.
(Taf. 3, Fig. 49).

Synonymie:
Gregarina polydesmi virginiensis LEIDY, 1853.
Gregarina polydesmi LANKESTER, 1863.
Amphoroides polydesmi LABBÉ, 1899.
Gregarina polydesmi-virginiensis CRAWLEY, 1903.
Amphoroides polydesmi-virginiensis ELLIS, 19913.

WATSON gab 1916 eine neue Beschreibung von dieser Art, nach welcher die Sporonten 400 bis 900 mikra lang sind. Ich fand folgende Dimensionen: Gesammtlaenge 370 mikra; Breite des Deutomeriten 40 mikra; Breite des Protomeriten 30 mikra; Länge desselben 40 mikra; Kern 10 mikra in Durchmesser.

Da die Figuren von WATSON manche Einzelheiten in der Struktur dieser Art nicht deutlich zeigen, gebe ich eine Zeichnung nach der Natur.

Stenophora polydesmi (LANK.) WAT. zeigt den Epimeriten in Form einer Calotte ohne Koerner, den Protomeriten koernig, mit laengsgerichteten Myonemen; quergelagerte Myoneme habe ich nie gesehen. Das Septum ist hell und leicht konkav, die Einbuchtung nach vorn gerichtet. Der Deutomerit ist ziemlich lang und durchweg braun gekoernt; er zeigt laengsgerichtete Myoneme; am Epizyten sieht man deutlich quergerichtete Myoneme, doch lassen sich diese nur an der Peripherie erkennen.

Wirt: Rhinocricus (sp.)
Vorkommen: Darm.
Fundort: Rio de Janeiro. (Leme)
Zeit: November, 1917.

Stenophora umbilicata PINTO, 1918.
(Taf. 5, Fig. 79 und 80).

Dimensionen: Gesammtlaenge des Sporonten: 320. Laenge des Protomeriten 25 mikra, Breite des Protomeriten 40, des Deutomeriten 150 mikra; Kern 40, Karyosom 10 mikra im Durchmesser.

Epimerit: rudimentaer. Protomerit sehr klein und stark abgeplattet. Deutomerit im Verhältnis zum Protomeriten sehr breit, von elliptischem Umriss.

Die Kombination von Epimerit und Deutomerit, die beide stark abgeflacht sind, laesst das Vorderende dieser Art nabelfoermig erscheinen.

Epizyt: bei einigen Sporonten nicht abgegrenzt, bei anderen am Vorderende des Deutomeriten angedeutet.

Endozyt: am Protomeriten und Deutomeriten hell und koernig.

Kern: sehr gross, rundlich, im Zentrum mit einem grossen kugelfoermigen Karyosom.

Wirt: Rhinocricus (sp).
Vorkommen: Darm.
Fundort: Rio de Janeiro (Leme).
Zeit:: Dezember, 1917.

Stenophora tenuicollis PINTO, 1918.
(Taf 5 Fig. 81).

Dimensionen: Gesamtlaenge des Sporonten 400 mikra; Protomerit 20 mikra lang und 20 mikra breit; Deutomerit in der groessten Breite 50, in der geringsten 18 mikra.

Kern: 10 mikra im Durchmesser.

Protomerit kegelfoermig. *Deutomerit* gekruemmt, von wechselndem Durchmes-

ser in seiner ganzen Laenge, im Vorderteile ballonfoermig erweitert. Nach hinten folgt ein schmaler Teil, der sich nach und nach erweitert und am Ende Keulenform annimmt. Der schmaelere Teil zwischen den beiden erweiterten Enden hat die Form eines langen und duennen Flaschenhalses.

Endozyt: im Proto- und Deutomeriten hell; sehr gut entwickelte Myoneme im Protomeriten und mittleren Teile des Deutomeriten.

Wirt: Rhinocricus (sp.).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro (Manguinhos).

Zeit: Dezember, 1917.

Genus Protomagalhaensia PINTO, 1918.

Genus-Diagnose: Sporen in Form eines Toennchens mit vier Dornen. Entwicklung immer intra-zellulaer. Zysten unbekannt. Alle Entwicklungsformen laenglich. Syzygien: Der Protomerit des Satelliten umfasst den Deutomeriten des Primiten zangenartig. Epimerit unbekannt. Ich stelle dieses Genus in die Familie *Gregarinidae* LABBÉ, 1889.

Nachfolgende Zusammenstellung zeigt die Verschiedenheiten zwischen meiner Gattung und dem Genus *Gregarina* DUFOUR, 1828.

Genus *Gregarina* DUFOUR, 1828.
Sporen zylindrisch oder in Toennchenform.
Entwicklung intrazellulaer.
Zysten mit Sporoducten.
Entwicklungsformen laenglich und rundlich.
Epimerit rundlich oder zylindrisch.
Syzygien: der Protomerit des Satelliten nur adhaerent am Deutomeriten des Primiten.

Genus *Protomagalhaensia* PINTO, 1918.
Sporen in Toennchenform, mit einem Dorn in jedem Winkel.
Entwicklung intrazellulaer.
Zysten unbekannt.
Entwicklunggsformen immer laenglich.
Epimerit unbekannt.
Syzygien: der Protomerit des Satelliten umfasst den Deutomeriten des Primiten zangenartig.

Typische Art der Gattung: PROTOMAGALHAENSIA SERPENTULA (MAGALHÃES, 1900). PINTO, 1918.

(Taf. 3 u. 6, Fig. 48 u. 93).

Synonymie:
Gregarina serpentula MAGALHÃES, 1900.

Dimensionen nach MAGALHÃES: Exemplare von 1,2 mm. Laenge bei 0,18 mm. Breite. Gewoehnliche Laenge 0,77 bis 0,80 mm. bei 0,06 mm. Breite. Der Protomerit ist 50 mikra lang.

Pr. serpentula zeigte stets die Form eines ziemlich langen Zylinders und besass in fast allen beobachteten Exemplaren sehr deutliche Myonemen; diese sind am Protomeriten und an Deutomeriten sichtbar und verlaufen in der Laengsrichtung der Gregarine. Transversale Myoneme im Epizyten habe ich nie beobachtet.

Bei einigen Exemplaren beobachtete ich einen kleinen braunen eifoermigen Fleck im Protomeriten des Sporonten. Im mittleren Teil des Protomeriten dieses Protisten sieht man auch eine leichte Einschnuerung infolge der Bewegungen, welche der vordere Teil des Protomeriten nach der einen oder der anderen Seite ausfuehrt. Die Syzygien koennen Y- oder Gabelform zeigen. In diesem Falle sieht man die Satelliten in verschiedener Weise am Primiten befestigt. Der echte Satellit befestigt sich am Primiten, indem er dessen Endteil zangenartig umfasst. (Fig. 48). Der Pseudosatellit tut dies in anderer Weise, das, heisst,

er befestigt sich am Primiten, wie der Satellit der *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918.

Wirt: Stylopyga americana (Kakerlake).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro (Leme).

Gregarina magalhaensi PINTO, 1918.
(Taf. 1 u 2, Fig. 18—29).

Dimensionen: der jungen Formen: Gesamtlaenge 80 mikra. Laenge des Protomeriten 20, Breites desselben 20 mikra; Durchmesser des Kerns 10 mikra.

Dimensionen: des Sporonten: Gesammtlaenge 300, Laenge des Protomeriten 65, Breite desselben 60 mikra; des Deutomeriten 70 mikra.

Epimerit: (Fig. 18—24 & 24). Dieser Teil ist bei *Gregarina magalhaensia* ziemlich beweglich und zeigt verschiedene Formen; in der Ruhe ist er kegelfoermig und frei von Koernern.

Protomerit: mit bemerkenswertem Pleomorphismus, bei jungen Formen (Fig. 24) zylindro-konisch, in anderen Faellen von vorne nach hinten abgeplattet (Fig. 23); zuweilen beobachtete ich auch abgeflachte Protomeriten mit Aus- und Einbuchtungen, entweder im Vorderteil (Fig. 25) oder an den Seiten (Fig. 26); die Veraenderlichkeit der Form des Protomeriten ist eine Folge der von der Gregarine ausgefuehrten Bewegungen, bei welchen sich der Protomerit nach beiden Seiten verschiebt. Septum geradlinig oder leicht gekruemmt, manchmal nicht wahrnehmbar. Deutomerit zylindrisch; bei intermediaeren Formen (Fig. 29) zeigt der Deutomerit mehr oder weniger S-form; Wenn sich die Gregarine vorwaerts bewegt, biegt sich der Deutomerit nach und nach und nimmt zuletzt eine abgeflachte S-form an.

Epizyt: zuweilen nicht wahrnehmbar (Fig. 26 und 28); in anderen Faellen dick mit vielen Falten von wechselnder Groesse am Deutomeriten (Fig. 29). Manchmal dringt der Epizyt in zwei Drittel des Deutomeriten ein, wodurch der Eindruck von Furchen entsteht. (Fig. 29).

Endozyt: hell, mit Granulationen im Protomeriten.

Deutomerit: ziemlich dunkel, ebenfalls mit vielen Granulationen.

Kern: von wechselnder Form und Groesse.

Zysten: eifoermig.

Wirt: Scolopendra sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro.

Zeit: November, 1917.

Meinen Kollegen Dr. ALVIM TEIXEIRA DE AGUIAR und Dr. ARTHUR PAULO DE SOUZA MARTINS, von denen ich das Material fuer das Studium dieser Art erhielt, spreche ich hier meinen besten Dank aus.

Gregarina brasiliensis PINTO, 1918.
(Taf. 2 Fig. 30—31).

Dimensionen: Gesamtlaenge 92 mikra; Laenge des Protomeriten 38 mikra; Breite desselben 30, Laenge des Deutomeriten 35 mikra; Laenge des Kerns 20, Breite desselben 10 mikra. Durchmesser des Karyosoms 4 mikra.

Verhaeltinis der Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge: 1:2,4; Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:1,1; Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1,2.

Protomerit: zylindrisch-eifoermig, gekruemmt, meistens dem vorderen Ende des Deutomeriten schraeg aufsitzend (Fig. 31); Deutomerit birnfoermig.

Epizyt: des Protomeriten und Deutomeriten ziemlich dick; Endozyt beider koernig; Zysten und Sporen nicht beobachtet. Kern oval, mit vielgestaltigem Karyosom und Chromatinkoernern von wechselnder Groesse, in unregelmaessiger Anordnung.

Beweglichkeit: Bei der Beobachtung dieser Art bemerkt man sofort ziemlich ausgesprochene Bewegungen; die Verschiebung findet nur nach vorne statt.

Differentialdiagnose: Diese Art gleicht der *Gregarina grisea* ELLIS, und dem *Actinocephalus stelliformis* AIME SCHNEIDER. Von ersterer unterscheidet sie sich durch deutliche Einschnuerung des Septums und Abwesenheit von Syzygien; ausserdem durch die Form des Vorderendes des Protomeriten. Von letzterem unterscheidet sie sich dadurch, dass sie einen Epimeriten besitzt, der sich lange Zeit erhält und durch die Form des Septums, welches bei *Actinocephalus stelliformis* immer flach ist. *Gregarina brasiliensis* zeigt nur eine Form des Deutomeriten, im Gegensatz zum *Actinocephalus stelliformis* A. SCHNEIDER, dessen Deutomerit drei Varietaeten anfweist, eine birnfoermige, eine laengliche und eine subsphaerische.

Wirt: Scolopendra sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro.

Zeit: Oktober 1917. Dr. SEVERINO LESSA spreche ich meinen Dank aus fuer die Beschaffung des Materials zum Studium dieser Art.

Gregarina elegans PINTO, 1918.

(Taf. 2 Fig. 37).

Dimensionen: Gesamtlaenge 75 mikra; Laenge des Protomeriten 10, Breite desselben 24 mikra; Breite des Deutomeriten 32; Laenge des Kerns 12, Breite desselben 5 mikra; Durchmesser des Karyosoms 2 mikra.

Verhaeltnis der Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge 1:7,5; Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:1,2; Breite des Protomeriten zu seiner Laenge 1:2,4.

Protomerit: kurz, von vorn nach hinten abgeflacht, in der Mitte mit einer eifoermigen Bildung, deren groesster Durchmesser quer verlaeuft; dieselbe kann nicht als Kern angesprochen werden, weil ihr die charakteristische Struktur fehlt. Am Vorderende des Protomeriten befindet sich eine Reihe von Fasern.

Deutomerit: birnfoermig. Epizyt am Protomeriten duenn, am Deutomeriten ziemlich dick. Endozyt bei beiden koernig, im Protomeriten braun, im Deutomeriten noch dunkler. Kern: Derselbe wurde in Praeparaten, welche mit Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN fixirt und mit Eisenhaematoxilin nach HEIDENHAIN gefaerbt waren, genauer auf seine Struktur untersucht. Der birnfoermige Kern zeigt eine ziemlich ausgesprochene Membran von wechselnder Dicke, mit einem etwas ovalen Karyosom, innerhalb und etwas nach vorne gelegen. Ein Zentriol wurde weder innerhalb noch ausserhalb des Kernes gesehen. Linin im Innern desselben unregelmaessig angeordnet.

Bewegungen: Diese Art besitzt Beweglichkeit. Sie bewegt sich immer nach vorn, ohne ruecklaeufige Bewegungen, wie sie bei *Gregarina aragãoi* vorkommen.

Zysten: und Syzygien konnte ich nicht beobachten.

Wirt: Scolopendra sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro.

Zeit: September, 1917.

Gregarina watsoni PINTO, 1918.

(Taf. 2 u. 3, Fig. 39—43).

Dimensionen der beobachteten Exemplare: Entwicklungsformen von 54 mikra bis zu 350 mikra langen Sporonten. Masse eines Exemplares mit erhaltenem Epimeriten (Fig. 41): Gesammtlaenge 130, Laenge des Epimeriten 12, Breite desselben 20 mikra; Laenge des Protomeriten 25, Breite desselben 38, des Deutomerites 40 mikra. Kern 10, Karyoson 4 mikra im Durchmesser. Dimensionen des Sporonten: Gesamtlaenge 350; Laenge des Protomeriten 52, Breite desselben 104, Breite des Deutomeriten 152 mikra. Kern 30, Karyosom 10 mikra im Durchmesser.

Dimensionen der Syzygien: Gesamtlaenge 570 mikra, Primit 300, Satellit 270 mikra lang.

Epimerit kugelfoermig, ohne wahrnehmbare Bewegungen.

Protomerit von etwas wechselnder Struktur, je nachdem eine noch junge Gregarine oder eine noch in Entwickelung begriffene oder bereits ein Sporont vorliegt. Bei den jungen Formen erscheint dieser Abschnitt mehr oder weniger zylindro-konisch, mit einer seichten Einschnuerung im mittleren Teile. In den Zwischenformen, mit erhaltenen Epimeriten, zeigt der Protomerit pyramidenartige Form mit einer konstanten Einschnuerung im mittleren Stück. Dagegen fehlt dieses Merkmal beim Protomeriten der Sporonten, der nur eine halbkugelfoermige Plasmaportion aufweist. Die Sporonten besitzen einen viel kleineren Proto- und keinen Epimeriten. Das Septum ist bei jungen und intermediaeren Formen flach und fehlt bei den Sporonten.

Deutomerit: bei jungen Formen birnfoermig, bei den intermediaeren zylindrisch mit abgerundeter Spitze; bei den Sporonten ganz zylindrisch.

Bewegungen: Die Gregarine bewegt sich ziemlich rasch in gerader Linie, beibt jedoch fuer einige Sekunden stationaer; dann biegt sich der hintere Teil des Deutomeriten gegen den vorderen und macht Kruemmungen nach rechts und links, so dass in dieser Falle eine V-Form entsteht (Fig. 43).

Epizyt: Bei jungen und intermediaeren Formen fehlend, bei den Sporonten ziemlich deutlich. Endozyt koernig und braun gefaerbt, sowohl im Proto-, als auch im Deutomeriten, im Vorderteile des Epimeriten und im Protomeriten der Sporonten heller. Kern rund mit grossem Karyosom. Syzygien wurden in einigen Exemplaren beobachtet.

Dr. ADOLPHO LUTZ und Dr. MAGARINOS TORRES sage ich meinen besten Dank fuer die Bestimmung des Wirtes und fuer die Beschaffung des Studienmaterials.

Wirt: Omoplata normalis GERM. (Coleoptera).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Nictheroy.
Zeit: April 1918.

Gregarina chagasi PINTO, 1918.
(Taf. 2 u. 4 Fig. 37 u. 56—60).

Dimensionen der Art: Totallaenge 130, Laenge des Protomeriten 35, Breite desselben 50, des Deutomeriten 50 mikra. Durchmesser des Kerns: 10 mikra.

Gegenseitige Beziehungen dieser Masse: Laenge des Protomeriten zur Gesammtlaenge 1:3,6, der Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten 1:1,5, der Breite des Protomeriten zur Laenge desselben: 1:1,5.

Protomerit: sub-globulaer, von hinten nach vorne abgeflacht und zwar schon bei den jungen Formen. Deutomerit zylindrisch, bei den jungen Formen im hinteren Teile schmaeler. In dem Masse, wie die Gregarinen sich zum Sporonten entwickeln, aendert sich die Form des Deutomeriten, der zuletzt in seiner ganzen Laenge gleich breit erscheint. Bei den Zwischenformen zeigt er eine nahezu sub-globulaere Zilinderform, spater als Sporont wird er laenglich mit hinterer Abflachung.

Epizyt: ziemlich biegsam, von gleichmaessiger Dicke; bei den jungen Formen dieser Art bemerkte ich deutliche Myonemen im hinteren Teile des Deutomeriten (Fig. 57). Endozyt gelblich, mit zerstreuten Koernchen im Proto- und Deutomeriten. Bei einigen Exemplaren bemerkte ich eine helle Querbinde im vorderem Teile des Deutomeriten (Fig. 58).

Kern: rund, mit manchmal sehr deutlicher Membran und zuweilen mit rundem, etwas excentrischem Karyosom. Ich beobachtete eifoermige Zysten von sehr geringer Groesse (Fig. 59 und 60). Sporen bemerkte ich nicht. *Bewegungen:* Deutomerit im vorderen Drittel biegsam, sodass sich ein kleiner Teil desselben mit dem Protomeriten nach rechts und links biegen kann. Nachdem die Gre-

garine diese Bewegungen ausgefuehrt hat, verschiebt sie sich in gerader Linie etwas nach vorn und steht einige Sekunden still; manche Exemplare bewegen sich vorwaerts und rueckwaerts.

Wirt: *Conocephalus frater* REDT. (Heuschrecke).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Manguinhos, Rio.

Zeit: Dezember 1917.

Die Bestimmung des Wirtes verdanke ich Dr. A. DA COSTA LIMA, von der Landwirtschaftlichen Schule.

Gregarina aragãoi PINTO, 1918.

(Taf. 2, 3, 4 u. 5 Fig. 44—47, 50—55, 61—62, 72—78)

Dimensionen: Gesamtlaenge 170 Breite des Deutomeriten 70 mikra; Laenge des Protomeriten 30, mikra; Breite desselben 40 mikra. Epimerit 10 mikra lang und 10 breit. Syzygien: Laenge des Primiten 160 mikra; zu 160 Breite; Satellit 150 mikra lang, 140 breit. Kern 12, Karyosom 8 mikra im Durchmesser.

Epimerit: zylindrisch mit abgerundetem Ende wenig beweglich, zuweilen sich nach rechts oder links verschiebend. Protomerit, je nach dem Entwicklungszustand von wechselnder Form; bei jungen Exemplaren fast halbkugelig oder sonst zylindrisch mit abgerundetem Vorderende.

Deutomerit: von mehr oder weniger laenglicher Eiform. Epizyt ziemlich biegsam, von gleichmaessiger Dicke. Endozyt in einigen Exemplaren hyalinisch so dass die Gregarinen oft kaum zu erkennen sind. In anderen Faellen sind sie gut sichtbar, indem der Endozyt hellbraun erscheint. In nach HEIDENHAIN mit Eisenhaematoxylin gefaerbten Praeparaten zeigt der Endozyt wabige Struktur.

Kern: (Fig. 78.) rund mit gut erkennbarer Membran, meistens in der Mitte gelegen; doch sah ich ihn auch exzentrisch im vorderen Teile des Deutomeriten. In Darmschnitten, nach Fixierung mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN und Faerbung mit Haematoxylin nach HANSEN, konnte ich die Kernstruktur besser erkennen. Er zeigt immer ein grosses Karyosom. In der Kernsaftzone bemerkte ich haeufig ein Chromatinkorn, meist sehr nahe am Karyosom und mit diesem durch eine chromatinhaltige duenne Faser oder einen Schreier verbunden. Aehnliche Koerner beobachtete ASTROGILDO MACHADO in seiner *Schizocystis spinigeri* MACHADO.

HARTMANN, PROWAZEK und MACHADO halten diese Chromatinkoerner fuer aus dem Karyosom ausgetretene Zentriolen. Der Kern besitzt beinahe immer grosse Chromatinkoerner. Das Karyosom ist fast immer rund.

Syzygien: (Fig. 61 & 62) wurden einige Male beobachtet. Fig. 61 zeigt eine Form kurz vor der Enzystierung. Es gelang nicht, die Sporen zu beobachten.

Bewegungen und Formveraenderungen: Einige Exemplare zeigen rasche Vorwaerts-, andere seitliche Bewegungen. In letzterem Falle biegt sich die Gregarine auf sich selbst zurueck und der Endozyt verdichtet sich derartig, dass eine von der normalen ganz verschiedene Form entsteht. (Fig. 51) Ich sah Exemplare dieser Gregarine eine rundliche Form annehmen und sich nach Art der Ziliaten bewegen (Fig. 50); nach einigen Sekunden nahmen sie wieder eine laengliche Form an, und fuhren fort sich vor- und seitwaerts zu bewegen.

Entwicklungszyklus: Obgleich ich zahlreiche Coleopteren, die diese Gregarine beherbergten, untersuchte, konnte ich nur einen Teil des Entwichlungszyklus beobahten. Es gelang nicht Sporen oder Zysten in verschiedenen Reifestadien zu finden, was mich hinderte, Gameten und ihre Konjugation, Kopula, Zygoten, Sporen und Sporozoiten zu beobachten. Trotzdem der Darm des Wirtes aeusserst duenn war, wurde er doch im Sublimatalkohol nach SCHAUDINN fixiert, in Paraffin eingebettet und in seiner ganzen Laenge in Serienschnitte zerlegt, die

mit HEIDENHAINschem Eisenhaematoxylin gefaerbt wurden.

Der laengliche Sporozoit biegt die Cilien der Epithelzellen zur Seite und dringt in dieselben ein (Fig. 73); im Innern angelangt, verdraengt er den Kern und nimmt eine ovale Form an. (Fig. 72). In weiter vorgeschrittenen Phasen zeigt der Parasit zwei Segmente (Fig. 75) oder sogar 3 (Fig. 74) mit einen im Deutomeriten gelegenen Kerne. Nachdem die Gregarine sich auf Kosten der invadierten Epithelzelle entwickelt hat, verlaesst sie dieselbe (Fig. 75) und bleibt noch einige Zeit mit dem Epimeriten in Verbindung (Fig. 76); manchmal laesst sie beim Austritt aus der Zelle den Epimeriten an derselben haengen. Im anderen Fällen wird derselbe nach der Abloesung lange Zeit beibehalten.

Wirt: Systena sp. (kleiner Kaefer).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Manguinhos.

Gregarina legeri PINTO, 1918.
(Taf. 6 Fig. 86).

Dimensionen: Gesammtlaenge 290 mikra; Laenge des Protomeriten 60, Breite im vorderen Teile 70, im hinteren 50, Breite des Deutomeriten 60, im verbreiterten Teile 80 mikra. Kern 50 zu 30 mikra.

Verhaeltnis der Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesammtlaenge 1:4,8; Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten 1:1; Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1.

Protomerit: kurz, zylindrisch, am Vorderende kuglig erweitert; hier zeigt die Gregarine Spuren des Epimeriten, der sich losgeloest hat. Deutomerit zylindrisch, endet am hinteren Teile kuglig erweitert, woran man diese Art leicht von allen anderen unterscheidet.

Epizyt: doppelt konturiet, ohne deutliche Streifung. Endozyt koernig, braun, sowohl im Protomeriten als auch im Deutomeriten. Kern eifoermig, im erweiterten Endteile des Deutomeriten gelegen. Zysten und Sporen kamen nicht zur Beobachtung. Diese Art wurde nur einmal in *Stylopyga americana* gefunden.

Wirt: Stylopyga americana (Gemeine Kakerlaken).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro. (Leme

Zeit: Dezember 1917.

Das Material zum Studium dieser Gregarina verdanke ich D. ABELARDO MELLO.

Bothriopsis claviformis PINTO, 1918.
(Taf. 4 Fig. 63—67).

Dimensionen: Es wurden Exemplare von 100 bis 200 mikra Laenge beobachtet. Breite des Deutomeriten 50 mikra, Laenge des Protomeriten 35 mikra zu 70 Breite. Epizyt gut entwickelt.

Protomerit: von vorne nach hinten abgeflacht, immer viel breiter als der Deutomerit, mit ihm zusammen eine Keulenform darstellend. Bei den meisten Exemplaren sah ich im Vorderteile des Protomeriten eine helle koernchenfreie Zone.

Deutomerit: vorne verbreitert, am Hinterende immer abgerundet. Hier finden sich bei den meisten Individuen Flecken von wechselnden Form, die zwar koernig, aber immer heller als der Rest des Endozyten des Deutomeriten erscheinen. Im Protomeriten sah ich solche Flecken niemals.

Das Septum ist immer konkav und dringt keilfoermig in den Protomeriten ein. Der Kern zeigt runde, ovale oder Hantelform. Zysten unbekannt.

Wirt: Larve einer Aeschnide (Odonata).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Manguinhos.

Zeit: Juli, 1918.

Das Material zum Studium dieser Art verdanke ich Dr ADOLPHO LUTZ.

Monocystis perforans PINTO, 1918.
(Taf. 4—6 Fig. 68—71 & 94—100)

Beobachtung der Sporozoitenbildung

«in vitro»: Da diese Monocystide sehr zahlreiche Sporen aufwies, versuchte ich die Sporozoitenbildung zu beobachten, was verhaeltnismaessig leicht gelang. Zu diesem Zwecke nahm ich Zysten mit Sporen in verschiedenen Reifegraden und mischte sie mit physiologischer Kochsalzloesung von 8,5% und brachte die feuchte Mischung in eine Temperatur von 21°. Nach halbstuendiger Beobachtung, entstand allmaehlich der erste Sporozoit; nach einer Stunde hatten sich sechs Sporozoiten gebildet, von denen jeder annaehernd dieselbe Zeit gebrauchte. Am frischen Material konnte ich an nach HEIDENHAIN oder mit Haemalaun-Eosin gefaerbten Preparaten erkennen dass die Sporen acht Sporozoiten enthielten.

Spore: *Monocystis perforans* besitzt Sporen von doppelter Kegelform mit resistenter Membran und gleichen Polen, die regelmaessig gebildet und glatt sind (Angiosporen). Endospore eifoermig mit acht halbmondfoermigen Sporozoiten (Fig. 100), deren Kern zentral gelegen ist. Die Sporozoiten messen 5:1, die Sporen 24:7,5. mikra. Endosporen 14 mikra lang, 6,5 breit. Im Zentrum der Spore beobachtete ich bei frischen und gefaerbten Praeparaten ein kleines rundes Gebilde in der Mitte von 7 andern. Die so entstandene Rosette repraesentiert den Restkern der Spore.

Der Koerper der *Monocysts perforans* zeigt wechselnde Formen, unter welchen zylindrische vorherrscht. Man sieht isolierte Gregarinen und Syzygien. Die Soronten sind mit blossem Auge sichtbar und messen 1200 zu 800 mikra (Primit); der Satellit ist kleiner, 800 bis 750 mikra; die gemessenen Sporontenkerne waren 150 mikra lang und 50 breit; das rundliche Karyosom liegt regellos im Innern des Kerns; das Protoplasma der Gregarine ist in seiner ganzen Ausdehnung grob vakuolisiert.

Ich verdanke Herrn Professor CARLOS MOREIRA vom *Museu Nacional* die Bsstimmung des Oligochaeten in der die *Monocystis perforans* yorkommt.

Wirt: Glossoscolex wiengreeni Mchlsn.

Vorkommen: Hoden.

Fundort: Rio de Janeiro (Gavea).

Zeit: Juli 1918.

Erklaerung der Figuren.
(Taf. 1—6)

Fig. 1 *Fonsecaia polymorphà* PINTO, 1918. Spore.

Fig. 2 *Fonsecaia polymorpha* dito, runde Form.

Fig. 3 *Fonsecaia polymorpha* von oben nach unten gesehen.

Fig. 4—10 *Fonsecaia polymorpha*, Entwickelungsform. In Fig. 7 sind die Myonemen nur in der vorderen Haelfte des Deutomeriten sichtbar.

Fig. 11 *Fonsecaia polymorpha*. Dasselbe Exemplar wie in Fig. 17 (Sporont), zusammengezogen das die Form, wie in Fig. 11. angenommen hat.

Fig. 12 *Fonsecaia polymorpha* in Krugform; Myonemen im vorderen Teile des Deutomeriten sichtbar.

Figrn. 13—16 *Fonsecaia polymorpha* im Uebergang zum Sporonten.

Fig. 17 *Fonsecaia polymorpha* Sporonten. Der Protomerit klein im Verhaeltnis zum Deutomeriten; Epimerit ohne Koernung. Im mittleren Teile des Sporonten eine helle Zone in Folge des Ausfallens der Koernung des Endozyten; sehr deutliche Myonemen im mittleren Teile des Sporonten; Kern in Rosettenform, ein Karyosom enthaltend.

Figrn. 18—24 *Gregarina magalhaensi* PINTO, 1918: Junge Formen. Epimerit in allen Exemplaren sichtbar, nur in dem der Fig. 23 fehlend; In Fig. 20 bis 22 ist der Epimerit amoeboid und wechselt seine Form, den, vom Protomeriten ausgefuehrten Bewegungen entsprechend.

Figrn. 25—28 *Gregarina magalhaensi* dito, Entwickelung zu Sporonten.

Fig. 29 *Gregarina magalhaensi* dito, Sporont. Kern unsichtbar. Epizyt bildet Falten, die bis zum dritten Teile des Endozyten eindringen.

Figrn. 30—31 *Gregarina brasiliensis* PINTO, 1918. Eisenhaematoxylinfaerbung nach Heidenhain. Fig. 30 zeigt eine Gregarine in der Ruhe und Fig. 31 eine solche in Bewegung; Kern in Fig. 31 eifoermig, in Fig. 30 elliptisch. Im Kern sieht man stark gefaerbte Chromatinmassen von wechselnder Form und Groesse.

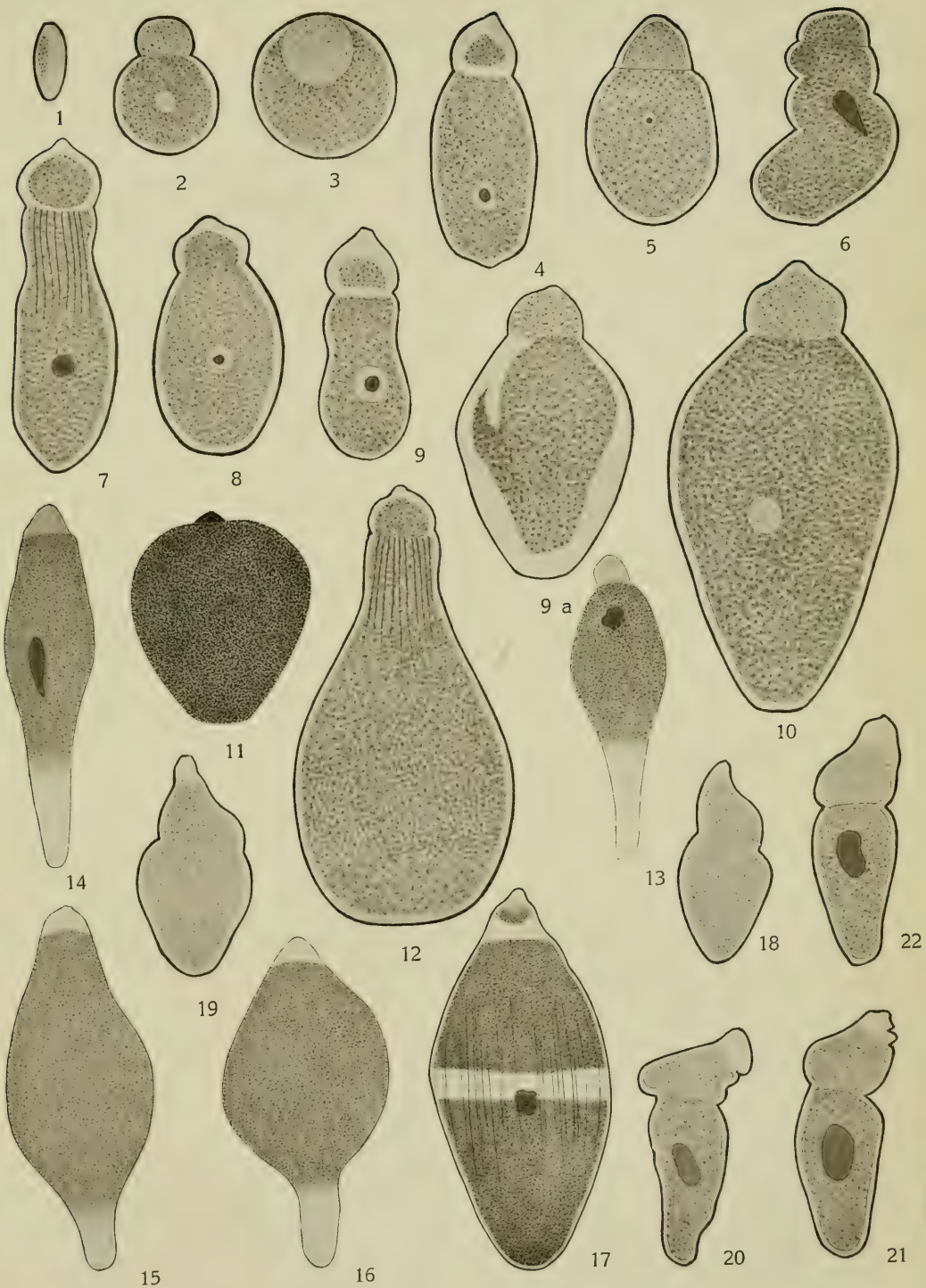
Fig. 37 *Gregarina elegans* PINTO, 1918. Eisenhaematoxylinfaerbung. Linin in Koernchenform.

Figrn. 32—36 *Stenophora lutzi* PINTO 1918. Der Epimerit fehlt nur bei dem Exemplar in Fig. 32. Alle Gregarinen enthalten Kerne, derjenige in Fig. 36 zeigt ein rundes Karyosom.

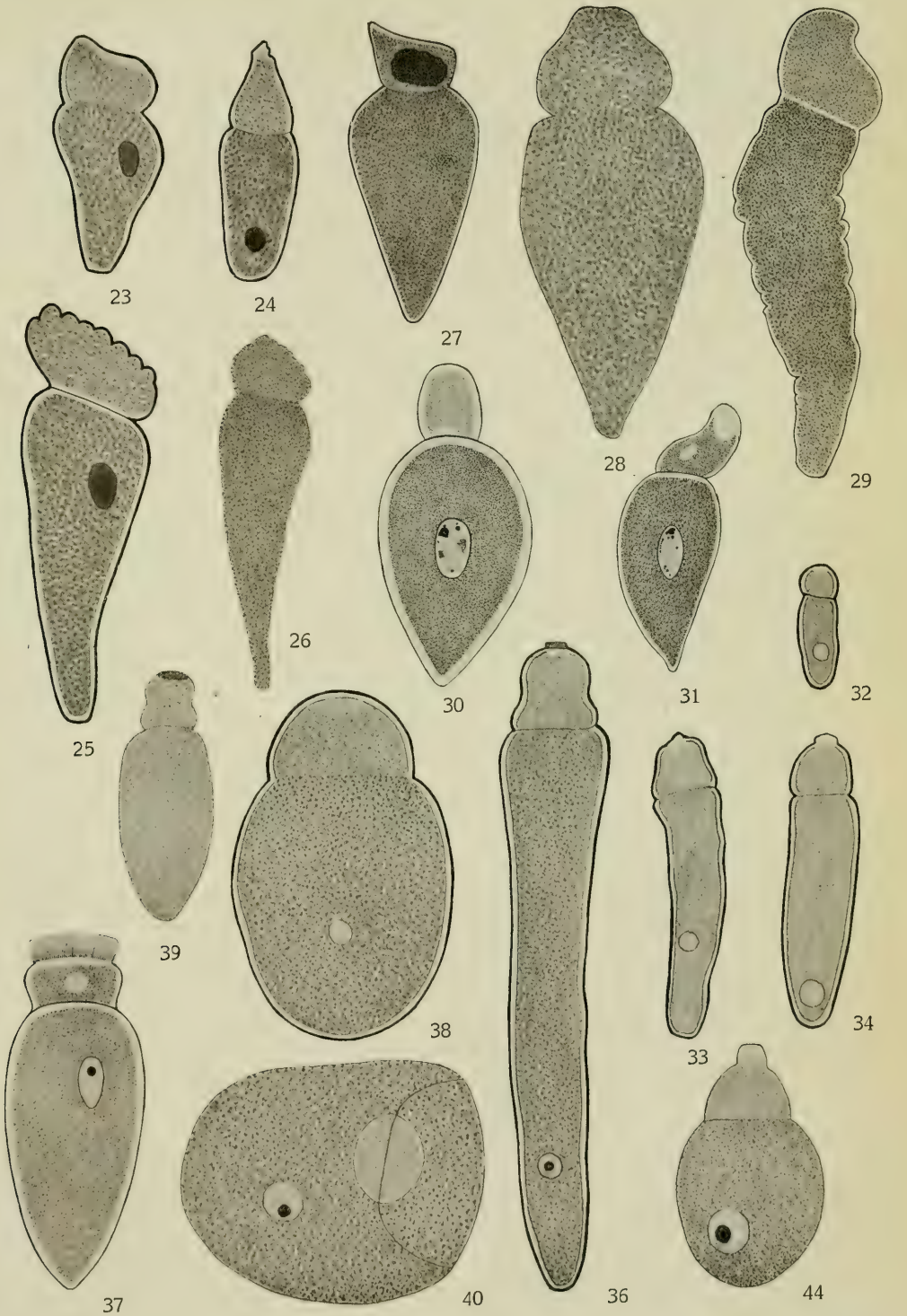
Figrn. 38, 56—60 *Gregarina chagasi* PINTO, 1918. Junge Formen in Fig. 57 und 58. Entwicklungsform ohne erkennbares Septum in Fig. 38. Sporont in Fig. 56. Cysten in Fig. 59 und 60, Fig. 57 zeigt Myonemen im Endteile des Deutomeriten. Fig. 58 eine helle Binde im vorderen Teile desselben.

Figrn. 39—43 *Gregarina watsoni* PINTO, 1918. Fig. 39 junge Form, mit dunklem Fleck im vorderen Teile des Protomeriten Fig. 40 eine bewegliche Form, bei welcher Epimerit und Protomerit ueber den Deutomeriten zurueckgebogen sing. Fig. 42 Syzygie der Gregarine. Fig. 41 zeigt den Epimeriten, den Protomeriten und den Deutomeriten. Fig. 43 Sporont, dessen Deutomerit seitlich umgebogen ist.

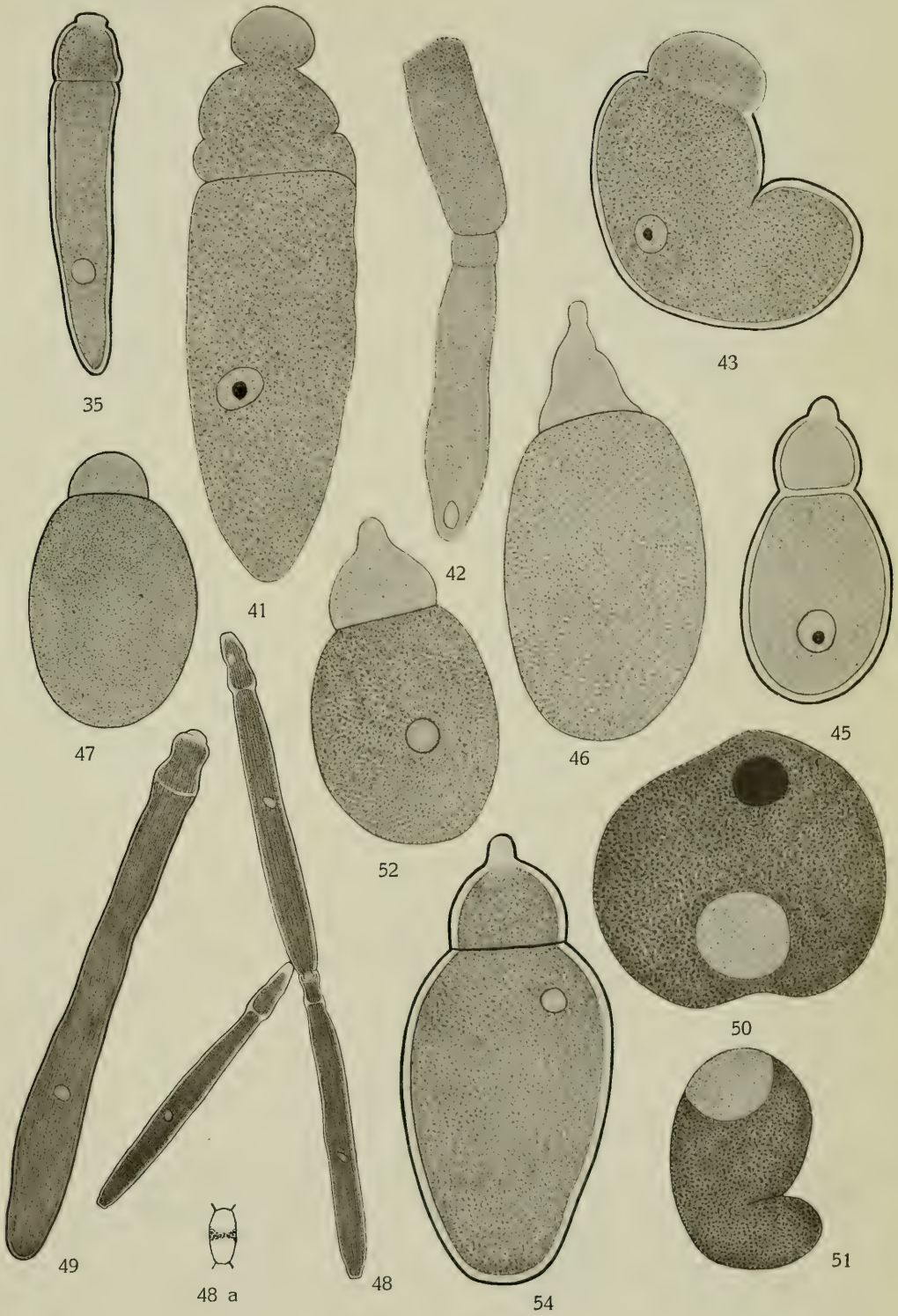
Fig. 49 *Stenophora polydesmi* (LANK, 1863). WATSON, 1916.



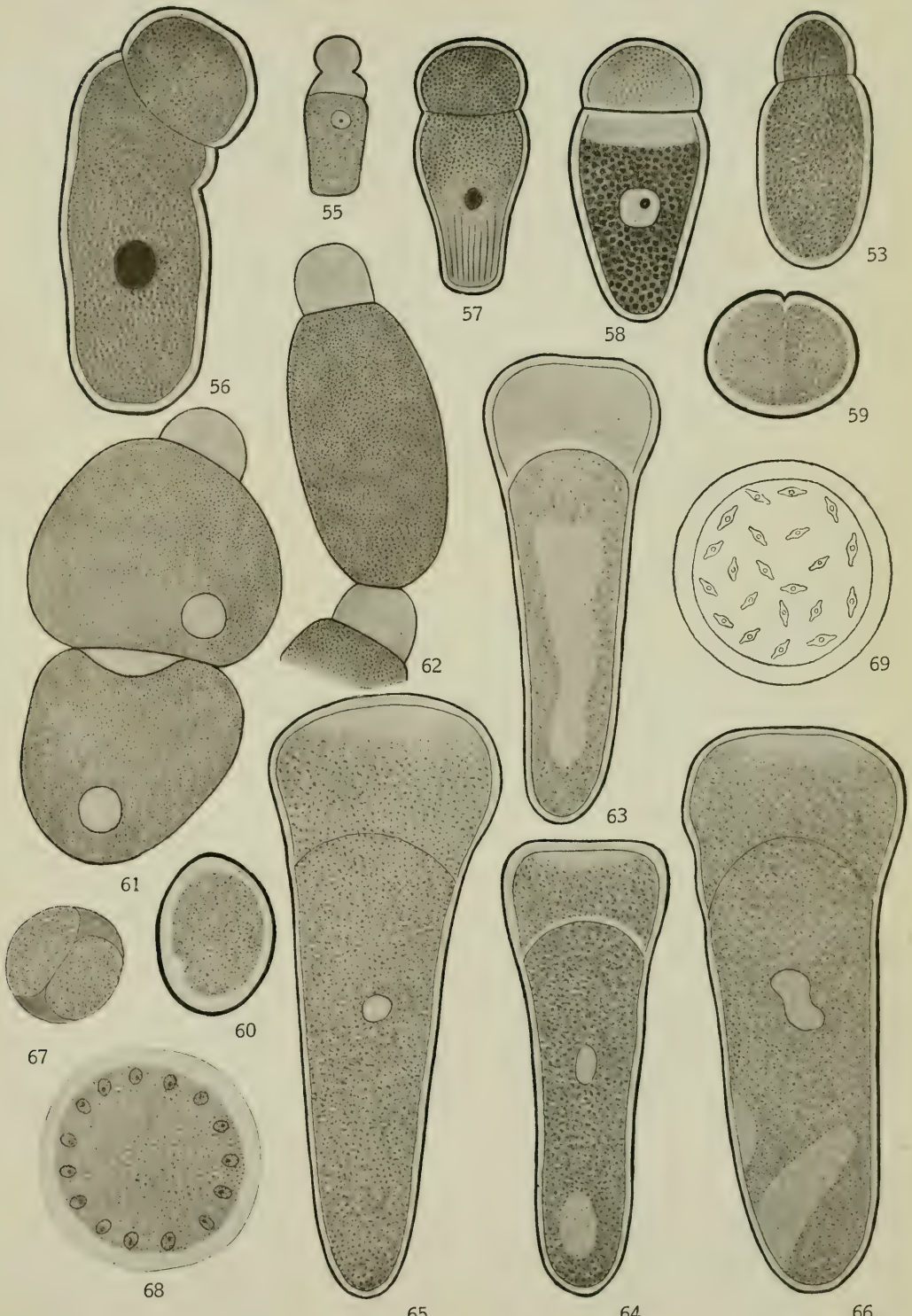
L. CORDEIRO, del.



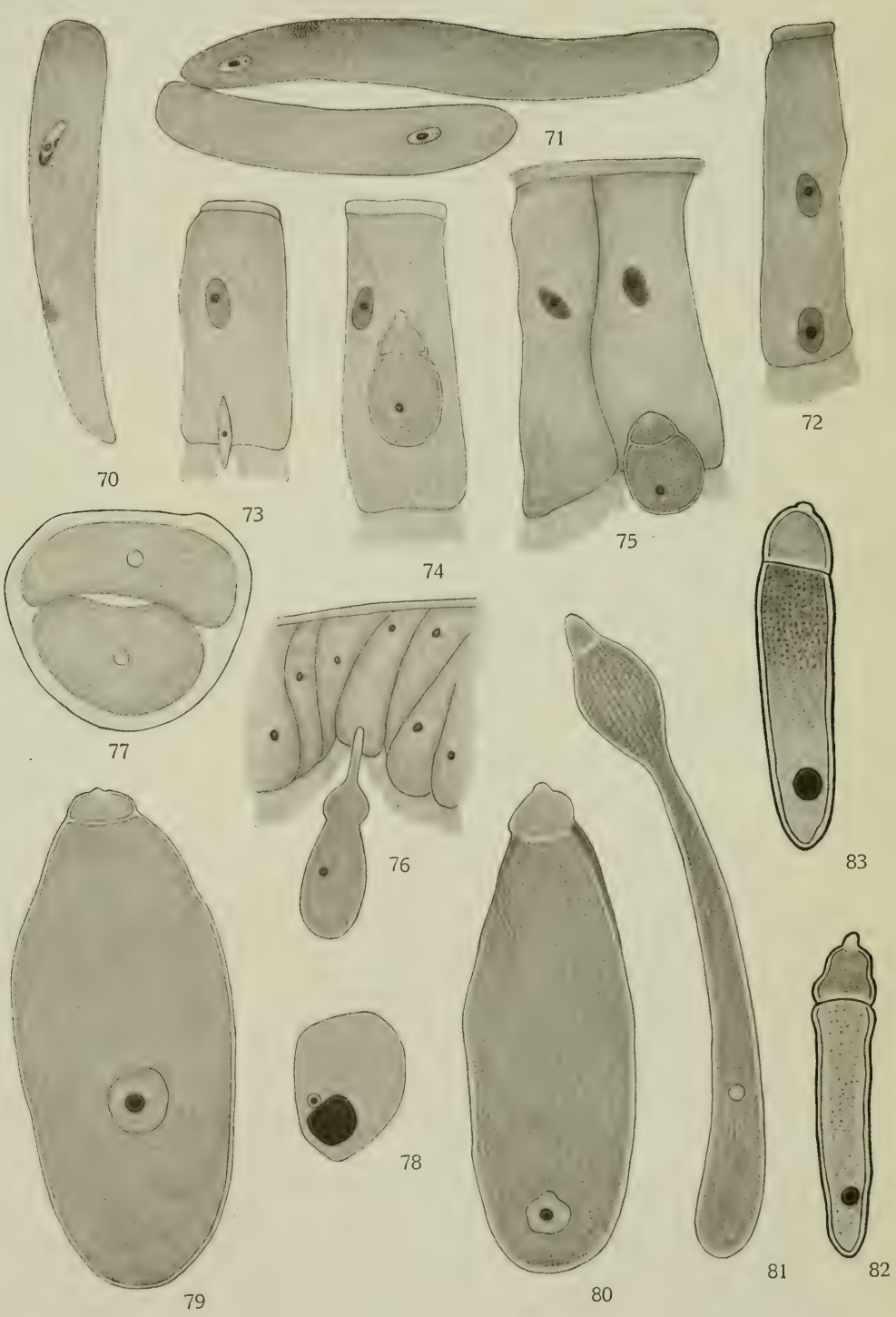
L. CORDEIRO, del.



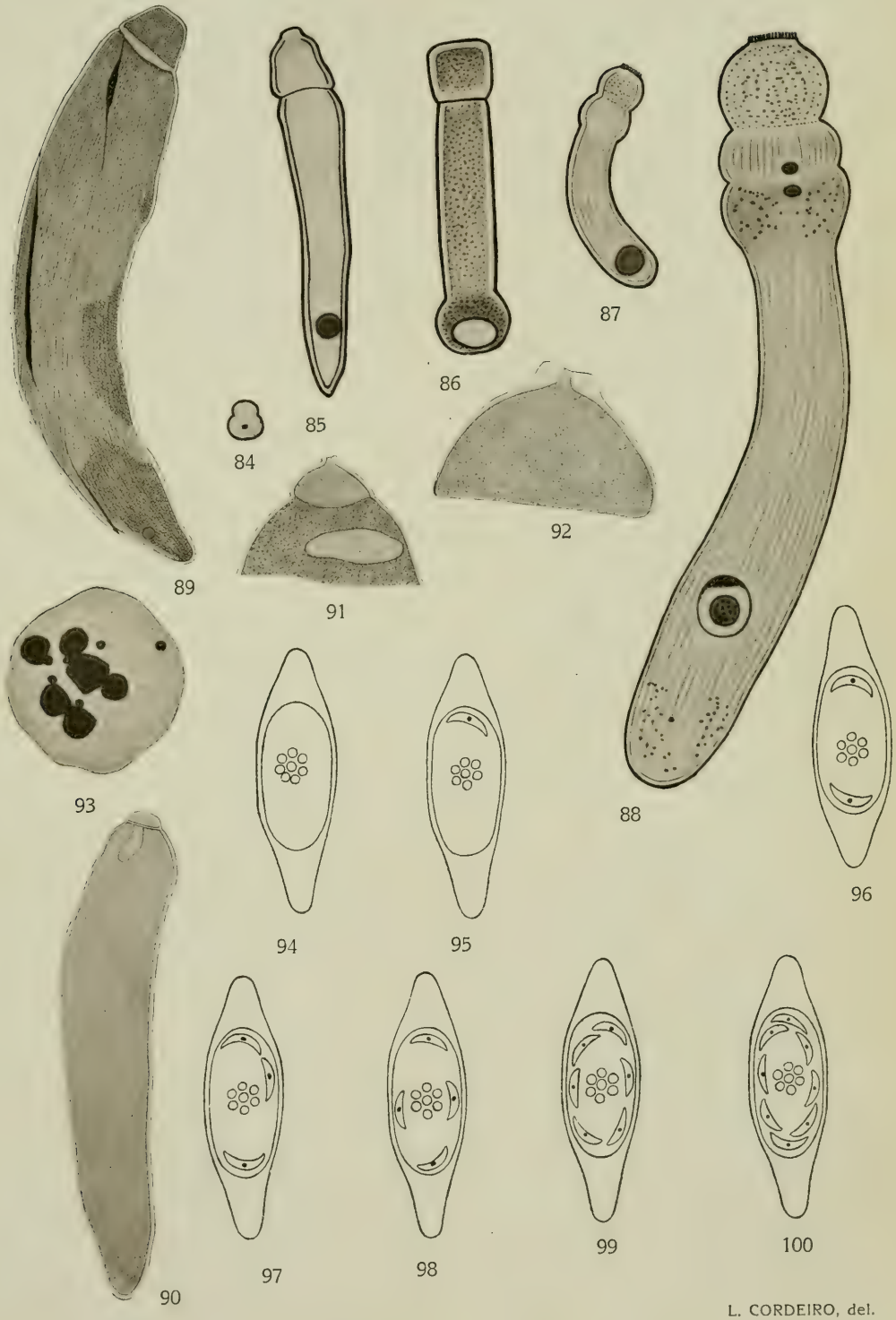
L. CORDEIRO, del.



L. CORDEIRO, del.



L. CORDEIRO, del.



L. CORDEIRO, del.

Fig. 44—47, 50—55, 61 und 62 *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918. Fig. 55 zeigt in starker Vergroessung ein sehr kleines Exemplar mit allen drei Abschnitten. Fig. 45 und 46 Entwicklungsformen mit Epimerit. Fig. Ein Individuum von oben gesehen, in dieser Stellung dreht sich die Gregarina nach rechts und links wie ein Infusorium; Fig. 51 zeigt eine solche Form in schraeger Lage, im Begriff die Lage des Exemplares in Fig. 50 anzunehmen. Fig. 52 und 53. Entwicklung zum Sporonten; Fig. 54 Sporont (typische Gregarinenform); Fig. 62 Syzygie und Fig. 61 eine zweite vor der Zystenbildung, deren Satellit eine Abflachung des Protomeriten aufweist.

Figrn. 63—66 *Bothriopsis claviformis* PINTO, 1918.

Fig. 67 *Bothriopsis claviformis* Dito, Zysten.

Figrn. 68—71 *Monocystis perforans* PINTO, 1918. Fig. 68 Zysten mit Gameten; Fig. 69 Zyste mit Sporen; Fig. 70 Gregarine, 71 Syzygie.

Figrn. 72—76 *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918. Endozellulaere Formen. Fig. 73 Sporozoit in eine Epithelzelle eindringend. Fig. 72 Spozoit in der Entwicklung zur Gregarine. Fig. 74 neugebildete Gregarine in einer Epithelialzelle Fig. 75 aus einer solchen austretend. Fig. 76. Eine Gregarine, mittelst des Epimeriten in einer Epithelialzelle fixiert. Fig. 77 eine Cyste; Fig. 78 Kern einer Gregarine (gezeichnet mit Okular 3 und Objektiv Imm. 1/12). Dicht am Kern ein von heller Zone umgebenes Zentriol.

Figrn. 79 und 80 *Stenophora umbilicata* PINTO, 1918.

Fig. 81 *Stenophora tenuicollis* PINTO, 1918.

Figrn. 82—85 *Stenophora lutzi* PINTO, 1918. Fig. 84 sehr junges Exemplar.

Fig. 86 *Gregarina légeri* PINTO, 1918.

Figrn. 87—88 *Stenophora cunhai* PINTO, 1918. Junge Form und Sporont.

Fig. 89 *Stenophora cruzi* PINTO, 1918. Sporont.

Figrn. 90—92 *Stenophora viannai* PINTO, 1918. Fig. 92 zeigt den Protomeriten und den Deutomeriten mit einer Papille.

Fig. 93 *Protomagalhaensia serpentula* (MAGALHÃES, 100), Kern (gezeichnet mit Kompensationsok. 6 und Objektiv 1,8). Eine Syzygie zeigt die Fig. 48.

Figrn. 94—100 *Monocystis perforans* PINTO, 1918. Sporen (gezeichnet mit Ok. 4 und Immersionsobj. 1/12). Im Zentrum der Spore sieht man eine Rosettenform, die dem Restkern entspricht. Von Fig. 97 an sieht man die Sporozoiten in der Spore.

On the relation of precipitins to precipitinogen

by

DR. J. COSTA CRUZ

The concomitant existence of precipitins and precipitinogen circulating in the blood of animals, vaccinated with sera of distant species, is a fact which was mentioned a long time ago and which immediately attracted the attention of numerous authors, on account of it's apparently contractory signification.

LINOSSIER and LEMOINE seem to have been the firsts to verify this phenomenon. EISENBERG studied it in detail and tried to explain it as a state of chemical equilibrium following the laws of mass action.

VON DUNGERN, in 1904, demonstrated by numerous experiments that the reaction lay outside the dominion of that law. A careful analysis of the phenomenon led him to believe that in the antigenic sera there existed not one but many precipitinogens which called into existence, in the immunised animals, not one but various precipitins, endowed each one, with affinity for it's corresponding antigen alone, so that the simultaneous presence in the blood stream of antigen and antibody, without precipitation could be readily understood.

On the other hand the numerous authors who occupied thenselves with demonstrating the specificity of precipitins for certain proteins disagree considerably in the results obtained.

LEBLANC, for instance, obtained, by immunising rabbits with beef-serum albumin (protein) and bullock serum pseudo-globulin, precipitins which would only precipitate with the antigens employed in immunisation. OBERMAYER and PICK, ROSTOSKI, UMBER, LANDSTEINER and CALVO believe, on the contrary, that no such specificity is ascertainable. In their experiments, OBERMAYER and PICK employed as antigen different substances extracted from white of egg: four chemically distinct globulins, one crystallising and one uncrystallising albumin. LANDSTEINER and CALVO immunised animals with different fractions of horse-serum obtained

by the usual precipitation processes. UMBER used albuminoids of the white of egg, a crystallised albumin and a crystallised globulin. ASCOLI, however, was able to demonstrate by means of elective absorption that the various immune sera, obtained by treating rabbits with different fractions of horse-serum, were not identical with one another. The precipitability of the serum entirely disappears after treatment by a sufficient amount of the corresponding antigen, whilst by treatment with a different fraction of horse-serum a partial reaction is obtained, enabling yet a subsequent precipitation with the fraction used in immunising the animal. Many other authors (BERTARELLI, SACCONAGHI, FRANCESCHELLI) have occupied themselves with this aspect of the problem, but their results do not lead us to a more secure conclusion than those of the first mentioned authors.

UHLENHUTH is of the oponion that the chemical processes for the preparation and purification of these antigens are not sufficiently perfect to allow us to take a stand in favour of one opinion, or the other, seeing that the precipitin-reaction is far more sensitive than the ones that can be made with chemical reactives.

This is also the point of view of the majority of authors who have contributed to these studies. Recently there have appeared authors who propose to explain the simultaneous coexistence of precipitin and precipitinogen on the basis of the analogy between this phenomenon and certain states of colloidal equilibrum, maintained by protective colloids (ZINSSER, YOUNG). Amongst many other arguments, one that appears to find the most favour with the authors, is the slow spontaneous precipitation, «autoprecipitation», which takes place in the precipitating sera on being kept some time. It is well known, however, that the same precipitation takes place in normal sera, kept under the most favourable conditions (UHLENHUTH). This point of view has been dispûted by WEIL who has gone back to the older view of VON DUNGERN, on the basis of numerous precipitations he carried out with crystallised egg albumen. WEIL claims that, if a pure protein like crystallised egg albumin is used for immunisation, antigen and antibody are never found simultaneously in the blood stream. (1)

This point, however, remains an open question and still awaits a definite solution.

The results obtained by our experiments do not seem to be entirely devoid of interest. We thought that, for VON DUNGERN's opinion to prevail, experimentally, one more road lay open to research, and that this was the one which, taking into account the term of incubation of the precipitins for the different fractions of antigenic serum employed, would indicate whether each fraction really determined a different and approximately specific incubation term in the same animal species. Although enormous individual oscillations in one species are known in relation to the capacity of production of the antibodies which interest us, we began the study of a series of animals, resolved to examine the question from this point of view. As multiple injections shorten the period of incubation, while, at the same time they reduce the period of permanence of precipitinogen in circulation, we only made use, for our experiments, of animals which furnished precipitins after one injection alone. As it is also very likely that the different precipitinogens do not maintain themselves in the same proportion in the sera of the animals of one species, we always used horse serum obtained from one blood-letting alone.

(1) WEIL, cited in ZINSSER, Infection and Resistance, 1918, page 271.

1rst Series of experiments:

Four rabbits of approximatively the same weight were inoculated with 10 cc. of normal horse serum and bled on the 4th, 5th, 9th and 16th day after inoculation. The sera, after having been separated, were titrated for their precipitating value, not only by making use of dilutions of the precipitinogen, but also by using dilutions of the precipitating serum itself in the presence of a dilution of precipitinogen at 1 to 100.

4th day serum precipitating up to 1/1.000 and precipitated, diluted at 1/2.

5th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated, diluted at 1/2.

9th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated, diluted at 1/8.

16th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated, diluted at 1/32.

The precipitating sera were used unaltered in the proportion of 0,5 and the precipitinogen in decreasing proportions from one half down to 1/64.

1rst Series: 16th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 4th day serum—ring up to 1/64.

2nd Series: 16th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 5th day serum—ring up to 1/64.

3rd Series: 16th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 9th day serum—ring up to 1/32.

4th Series: 9th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 4th day serum—ring up to 1/16.

5th Series. 9th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 5th day serum—ring up to 1/16.

6th Series: 9th day Precip. Ser. 0,5+0.5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 16th day serum—ring up to 1/2 ♂

7th Series: 5th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc. of 1/2, 1/4, 1/0, up to 1/64 4th day serum—ring up to 1/2 ♀

8th Series: 5th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 9th day serum—ring up to 1/4 ♂

9th Series: 5th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 16th day serum—ring up to 1/16 ♂

10th Series: 4th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 5th day serum—ring up to 0.

11th Series: 4th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 9th day serum—ring up to 1/4 ♂

12th Series: 4th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 16th day serum—ring up to 1/16 ♂

2nd Series of experiments.

Three rabbits of approximately equal weight were inoculated subcutaneously with 15 cc. of normal horse serum and were bled on 4th, 10th and 16th days.

16th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted at 1/32.

10th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted at 1/16.

4th day serum precipitating up to (?) and did not precipitate when diluted.

The 10th day serum was kept in the refrigerator for more than six days before realising the following experiments:

1rst Series: 0,5 of 16th day Precip. Serum + 0,5 of 1/2 etc. 1/128 4th day serum 1/128
2nd « « « « « « « + « « « « « 10th « « 1/64
3rd « « « 10th « « « + « « « « « 4th « « 1/64
4th « « « « « « « + « « « « « 16th « « 1/16 ♂
5th « « « 4th « « « + « « « « « 10th « « 1/16 ♂
6th « « « « « « « + « « « « « 16th « « 1/32 ♂

3rd Series of experiments:

Four rabbits were inoculated with 15 cc. of normal horse-serum and were bled respectively on the 6th, 10th, 16th and 21th days.

21th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted up to 1/32.

16th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted up to 1/32 with 1/100 Antigen.

10th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted up to 1/16.

6th day serum precipitating up to 1/1.000 and precipitated diluted up to 1/4.

The precipitate obtained with the 10th day serum in the tube with 1/100 of precipitinogen was slightly smaller than with the 16th day serum and perceptibly more abundant than the one obtained with serum of 21 days.

1rst Series: 0,5 of 21rst day Precip. Serum + 0,5 of 16th day Serum (diluted up to 1/256) 1/64.
2nd Series: 0,5 of 21rst day Precip. Serum + 0,5 of 10th day Serum 1/128
3rd Series: « « « « « « + « « 6th « « 1/256
4th Series: « « 16th « « « + « « 21th « « 1/8 ♂
5th Series: « « « « « « + « « 10th « « 1/64
6th Series: « « « « « « + « « 6th « « 1/256
7th Series: « « 10th « « « + « « 21th « « 1/16 ♂
8th Series: « « « « « « + « « 16th « « 1/16 ♂
9th Series: « « « « « « + « « 6th « « 1/128
10th Series: « « 6th « « « + « « 21rst « « 1/32 ♂
11th Series: « « « « « « + « « 16th « « 1/32 ♂
12th Series: « « « « « « + « « 10th « « 1/16 ♂

From these results one may infer:

a) That precipitinogen circulating in the serum of previously treated animals is only demonstrable by precipitating sera of a posterior date of bleeding.

b) That, when in a mixture of two precipitating sera, the one containing the more recent precipitins is taken for precipitant serum, precipitation never goes beyond the tube in which the serum of posterior date, diluted, is able to precipitate horse-serum at 1/100. (In the tables above, the arrows indicate the sense in which the precipitation produces itself; the precipitation diffuses in the serum that acts as precipitant, provided certain technical precautions are respected, every time the precipitate is not very dense, which is nearly always the case.)

c) That, (within certain limits) the precipitinogen-precipitation increases in proportion to the length of the interval of bleeding between the two sera.

4th Series of experiments:

A rabbit, inoculated with 15 cc. of normal horse serum and bled at the end of 26 days, furnished serum, precipitant up to 1/1.000.000.

A rabbit (serum n° 1), inoculated with 3 cc. of normal horse serum and bled six days afterwards, demonstrated a serum precipitant up to 1/1.000.

0,5 serum n° 1+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 2. No precipitation.

0,5 serum n° 2+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 1. No precipitation.

0,5 26th day's serum+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 1. Precip. up to 1/64.

0,5 26th day's serum+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 2. Precip. up to 1/265.

A rabbit was inoculated.

On Feb. 12th 1920 with 15 cc. normal horse serum.

On Feb. 14th 1920 with 10 cc. normal horse serum.

On Feb. 16th 1920 with 10 cc. normal horse serum

and bled on Feb. 20th 1920. That is 8 days after the first injection.

The serum 1 was precipitant up to 1/100.000.

A rabbit was inoculated with 15 cc. normal horse serum and bled eight days afterwards.

Adopting the same criterium as in the previous experiments, the *mixture of these two sera gave no precipitation.*

Two rabbits received subcutaneously 15 cc. of normal horse serum and were bled on the 1th and 10th day afterwards.

One of the sera precipitated up to 1/10.000, the other one which was slightly hemolysed, would not go beyond 1/1.000.

The serial mixture of these two sera, *would also not furnish precipitates even using the sera in their natural condition.*

Therefore one concludes that:

a) Precipitating sera with identical bleeding period, although they should have the same precipitating titre and very great differences in the quantity of precipitinogen, do not usually precipitate when mixed.

b) Precipitating sera with the same bleeding period, with different precipitating titres although with approximately equal quantities of precipitinogen, did also not produce the formation of a ring.

We must add, however, that sometimes upon mixture of precipitating sera with same period of bleeding (10th day, 16th day) we would obtain subsequently the slow appearance of a diffuse ring, undoubtely due to a phenomenon of precipitation.

These reactions were however very weak in comparison with those obtained with sera of different dates in the above mentioned series. We are therefore led to believe that the incubation terms of the precipitins in the animal species of are only *approximately* identical and that the character of precision evinced by our experiments is due to the the spaces of time sufficiently large to exceed individual oscillations.

5th Series of experiments:

A rabbit inoculated with 15 cc. of normal horse serum and bled on the 21rst. day, furhished precipitins up to 1/10.000.

This serum mixed with the one of 16 days already previouly employed and of a precipitating titre of 1/1.000.000, did not demonstrate precipitation in any of the tubes.

Two rabbits of approximately equal weight were inoculated with 15 cc. normal horse serum and four days later with another 10 cc.; seven days after the last injection one of them (n° 1) was bled of 50 cc. and the other (n° 2) only of 10 cc.

The precipitating titre did not exceed 1/10.000 and the mixture in any proportion of the two sera would not cause the appearence of a ring. Five days afterwards these animals were bled once more. Nr. 1 serum precipitated only up to 1/1.000, nr. 2 still up to 1/10.000.

1rst series: 0,5 serum nr. 1 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 1 of the 1rst bleeding: 0.

2nd series: 0,5 serum nr. 1 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 2 of the 2nd bleeding: 0.

3rd series: 0,5 serum nr. 2 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 1 of the 1rst bleeding: 1/16.

4th series: 0,5 serum nr. 2 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 2 of the 1rst bleeding: 1/8.

From these results one might draw the following conclusions:

On the 21rst day the precipitinogen has not remained in circulation in the rabbit in appreciable quantities when one injects 15 cc. horse serum.

When a vaccinated animal is bled twice, with a regular space of time between, although the precipitin titre should not have augmented, the serum of later date acquires the property of demonstrating the precipitinogen of the one of the first bleeding. If, on the other hand, the amount of blood taken at the first bleeding is sufficiently large, the serum of this animal not only shows a very noticeable reduction in its titre, but also does not acquire the property of precipitating the serum of earlier date. It appears, therefore, that in this case the bleeding not only removes for the greater part the precipitins already in circulation, but also the precipitinogen circulating in the blood; this circulating precipitinogen must therefore be considered as being indispensable for the formation of the precipitins which precipitate the precipitinogen of the first bleeding. *Everything occurs, in the process of vaccination, as if the different serum fractions were removed from the circulation, as the antibodies which precipitate them make their appearance in the blood, antibodies these that sum quantitatively up to the twenty first (21rst) day, or perhaps even later.*

One more fact might guide in this study. It is known that many antibodies function, if not directly as precipitinogens, at any rate as substances very nearly related to these bodies (KRAUS and PRIBRAM). DEHNE and HAMBURGER announced in 1904 that anti-horse rabbit sera were able to produce a fall, together with the precipitate, the tetanus antitoxin of horses actively immunised against this toxin.

That this reaction was absolutely specific and was not to be accounted for as a physical phenomenon was most convincingly proved by the works not only of these authors but of KRAUS and PRIBRAM and of V. EISLER and TSURU.

We began by ascertaining up to what space of time tetanus toxin could be found circulating in rabbits inoculated with sufficient quantities, and the results we obtained resemble those obtained by the authors who studied this point (DENNE and HAMBURGER, TIZZONI etc.).

Three rabbits of medium size were inoculated at intervals of five days. with 3, 5, 7 cc. of antitetanus serum representing a total of 15.000 A. U. As we carefully ascertained, the rabbit serum had previously shows itself indifferent with regard to the antitoxin.

13 days after the last inoculation we had still two animals which were bled and furnished serum for examination.

Reaction of precipitins present:

1rst Guinea-pig—1/2000 antiser.—2 cc. physiol. salt sol.—Cont. dosis: Died of tet. on 5th day.

2nd Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. salt sol.—Cont. dosis: Survived.

3rd Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. serum of rabbit sol. nº 1.—Cont. dosis: Died tet. 8th day.

4th Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2

cc. serum of rabbit sol. n° 1.—Cont. dosis: Survived.

5th Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. serum of rabbit sol. n° 2.—Cont. dosis: Died tet. 7th day.

6th Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. serum of rabbit sol. n° 2.—Cont. dosis: Survived.

7th Guinea-pig — 2 cc. ser. rabbit n° 1—0,0025 tet. toxin. Survived.

8th Guinea-pig — 2 cc. ser. rabbit n° 2—0,0025 tet. toxin. Survived.

9th Guinea-pig — 0,0005 tet. toxin. Died between 4th and 5th day.

The rabbit sera together with the dilutions of antitoxin serum were placed for an hour in the incubator at the end of which time the control-dosis of toxin was added, it being then allowed to stand for another hour at room temperature. The antitoxin employed was the same throughout and titration was always made by the ROSENAU ANDERSON method.

It thus becomes evident that thirteen days after the last inoculation, there still existed appreciable quantities of horse antitoxin in circulation, although precipitins were by then abundant.

Eight days later, after death of one of the animals, the remaining one was bled, and serum examined.

Reaction of precipitins present.

1rst Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. physiol. s. sol. Cont. dosis, Local tet. 3rd day, death on 4th.

2nd Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. s. sol. Cont. dosis.—Healthy, survived.

3rd Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. serum rabbit n° 1 Control dos. Diaphragmatic tet. Died afternoon of 2nd day.

4th Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. serum rabbit n° 1 Control dos. Diaphragmatic tet. Local tet. evident on 1rst day. Found dead next morning.

As will be seen this time, the antitoxin was entirely eliminated from antitoxic serum. We were able to ascertain beyond doubt that inactivation for half an hour at 56° does not in any way modify the toxin-inactivating property, and like DEHNE and HAMBURGER, we were easily able to regenerate antitoxic property by dissolving the precipitate in as excess of precipitinogen (normal horse serum). Unless the antitoxin is assumed to play the role of a precipitinogen, the interpretation of the phenomenon seems to remain very obscure, seeing that, once it is bound to its corresponding toxin, the precipitating serum is unable to liberate the toxin from it's antibody, as we ourselves were able to ascertain.

1rst guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. Precip. ser. — Control dosis.

2nd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. Control dosis Precip. sera.

3rd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. salt. sol. — Control dosis.

In the case of the second guinea-pig the toxin, after an hour's contact with the antitoxin, was left for another hour together with the precipitating serum in the incubator.

The first guinea-pig succumbed to tetanus within two days. The other two survived. Forty two days after the last inoculation, the serum of this same animal, after being bled once more, clearly retained the antitoxin-inactivating property.

Five rabbits were inoculated subcutaneously with 15 cc. of normal horse serum and bled on 6th, 10th, 16th, 21th and 26th day.

(Sera used as on pag. 36.)

1rst guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 6th day-Precip. serum.—Control dosis.

2nd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 10th day-Precip. serum.—Control dosis.

3rd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2

cc. 16th day-Precip. serum. — Control dosis.

4th guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 21th day-Precip. serum.—Control dosis.

5th guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 26th day-Precip. serum.—Control dosis.

6th guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc.—physiol. salt. solution.

On the second day after inoculation the 3rd, 4th and 5th guinea-pigs died of tetanus; the remaining three kept through out in good health. From this may be deduced that the precipitins capable of removing the antitoxin, only make their appearance towards the 16th day after inoculation, irrespectively of the precipitating titre of serum or of the amount of precipitate formed.

A rabbit was given three subcutaneous inoculations of normal horse serum in the following order:

On Jan. 10th, 1920 — 15 cc.

On Jan. 12th, 1920 — 10 cc.

On Jan. 15th, 1920 — 10 cc.

Bled on the 21rst it demonstrated precipitins up to 1/100.000 and with abundant precipitation up to 1/1000 of precipitinogen.

On Jan. the 23 1920.

1rst Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. Precip. serum.—Control dosis.

2nd Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. Precip. serum.—Control dosis.

3rd Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. salt. sol. Control dosis.

4th Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. physiol. salt. sol. Control dosis.

4th guinea-pig died within 60 hours; 2nd with 72. The remaining two survived.

A rabbit vaccinated with concentrated antitetanic serum (U. S. Standard), by means of three inoculations, at five days interval each time, was bled 24 days after the last injection; it's serum precipitated the antitoxin as well as the ones previously used.

With diphteria antitoxin, however, in spite of all our efforts we were not able to verify the disappearance of antitoxin by the use of precipitating sera, although we had used antitoxic sera obtained from different sources and of sufficiently elevated titre to unable their being employed for titration in as high as those in used in the case of tetanus antitoxin; and although all the precipitating sera had their activity againat tetanus antitoxin controlled.

Guinea-pig of 250 grammes.

1rst Guinea-pig — 1/700 antidiph. serum. — 2 cc. 21th day Precip. S.—Cont. dosis.

2nd Guinea-pig — 1/1000 antidiph. serum. — 2 cc. 21th day Precip. S.—Cont. dosis.

3rd Guinea-pig — 1/700 antidiph. serum. — 2 cc. phys. Salt. sol. S. — Cont. dosis.

4th Guinea-pig — 1/1000 antidiph. serum — 2 cc. phys. Salt. sol. S. — Cont. dosis.

Of these guinea-pig the last one died between the fourth and the fifth day, the second one five hours afterwards, both of them with congestion of adrenals and hemorrhagic infiltration at the site of inoculation.

250 gr. guinea-pigs. Precipitating serum of 36 days.

1rst guinea-pig — 0,1 standard antis. — 2cc. Precip. S. — 0,7 toxin (control dosis.

2nd guinea-pig — 0,1 standard antis. — 3 cc. Precip. S. — 0,7 toxin (control dosis.

3rd guinea-pig — 0,1 standard antis. — 2 cc. phys. s. sol. — 0,7 toxin (control dosis.

These guinea-pigs died one after another at short intervals on the night between fourth to fifth day.

Precipitating serum of 30 days.

1rst pigeon — 1/800 anti-dipht. s.—2 cc. precip. S.—Control dosis.

2nd pigeon — 1/1000 anti-dipht. s. —2 cc. precip. S.—Control dosis.

3rd pigeon — 1/800 anti-dipht. s.—2 cc. physiol. salt. sol. — Control dosis.

4th pigeon — 1/1000 anti-dipht. s. —2 cc. physiol. salt. sol. — Control dosis.

All the animals survived, except the last one which died on the 6th day.

Notwithstanding our eagerness to provide the best conditions for obtaining positive results, we found it invariably impossible to remove the diphteria antitoxin by means of anti-horse rabbit serum.

These results explain however the reason why the experiments of KRAUS and PRIBRAM entirely disagree with those of DEHNE and HAMBURGER as to the precipitation of antitoxin in vivo, for while the latter worked with tetanus antitoxin the others employed diphtheria antitoxin in their investigations. For this reason KRAUS and PRIBRAM's conclusions on this subject do not possess an unquestionable value.

But not only with diphtheria antitoxin did we have negative results; the experiments with bothropic antivenin led us to similar results. These results are, however, more open to criticism, seeing that for the titration of serum it is not possible to make high dilutions of precipitinogen, which according to K. and P. is essential in obtaining reliable results. To obviate this drawback, we used excessive quantities of precipitating serum which had, as in the case of the diphtheria antitoxin, been previously verified with tetanus antitoxin.

The antivenin used was obtained from the Serum-therapeutic Institute of Butantan, State of São Paulo, and had titration indicated on the basis of 1 cc. of serum corresponding to 1,6 of poison of *Lachesis lanceolatus*. The poison we obtained from Bello Horizonte. All the titrations were made by the process of VITAL BRAZIL. Before adding the poison the tubes were left with antitoxic and precipitating serum during 2 hours in the incubaton at 37° Centigrade. After the addition of the poison they remained yet another hour at 37° C. before being injected in the axillary vein of the pigeon.

1rst pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 3 cc. Precip. Ser.—1,6 poison Lachesis lanceolatus.

2nd pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 3 cc. Precip. Ser.—1,6 poison Lachesis lanceolatus.

3rd pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 1 cc. Precip. Ser.—1,6 poison Lachesis lanceolatus.

4th pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 3 cc. dist' water — 1,6 poison Lachesis lanceolatus.

5th pigeon — 1,6 of poison of Lachesis lanceolatus.

All the pigeons kept in good health and survived the inoculation, except the last one which died immediately.

2nd Series:

1rst Pigeoon — 1/10 Bothr. serum 2 cc. Precip. S. — 0,16 poison L. lanceolatus.

2nd Pigeon — 1/10 Bothr. serum 1,5 Precip. S. — 0,16 poison L. lanceolatus.

3rd Pigeon — 1/10 Bothr. serum 1cc. Precip. S. — 0,16 poison L. lanceolatus.

4th Pigeon — 1/10 Bothr. serum 2cc. phys. s. s. 0,16 poison L. lanceolatus.

5th Pigeon — 0,16 poison of Lachesis lanceolatus.

All these animals resisted without alteration of their state of health excepting the last one which died within five minutes.

The scarcity of the serum in the market prevented us from performing other experiments and from determining titrations with Crotalus (rattle-snake) antivenin The precipitating serum emplo-

yed in these experiments was of 24 days.

Still more interesting were the results obtained with tetanus antitoxin and human anti-horse precipitating serum.

A. S. received in two days 300 cc. of antipest serum in three injections, two in the vein and one subcutaneously. Last injection on Nov. 11th, 1919.

On Nov. 19th, 1919 he was bled and the serum demonstrated:

Presence of precipitinogen up to a dilution of 1/10.

Presence of precipitins up to a dilution higher than 1/1000.

Absence of precipitin for tetanus antitoxin.

On Nov. 26, 1919, bled once again his serum demonstrated:

Presence of precipitinogen up to 1/10.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Complete absence of precipitins for tetanus antitoxin.

On Dec. 14, 1919, bled for the last time, the patients serum upon being analysed demonstrated:

Presence of precipitinogen up to 1/2.

Presence of precipitins up to 1/10.000

Absence of precipitin for tetanus antitoxin.

C. R. received 320 cc, antipest serum in three intravenous inoculations, the last one on Nov. 11, 1919.

On Nov. 22, 1919, after bleeding the serum showed:

Presence of precipitinogen up to 1/10.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Absence of precipitin for tetanus antitoxin.

On Dec. 5, 1919.

Presence of precipitinogen up to 1/2.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Absence of any action upon tetanus antitoxin.

On Dec. 29, 1919.

Absence of precipitinogen.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Absence of any harmful effect for tetanus antitoxin.

The precipitinogen was searched for with the aid of anti-horse precipitating rabbit serum, of 17 days. The titrations of the antitoxin were performed with such an approximation to the antitoxic titre of serum that a distinct local tetanus was obtained in the guinea-pigs.

Later on, we had opportunitity of examining three more individuals, but we exempt ourselves from exposing the results in detail, as they do not in any way differ from the ones mentioned. In no case could we obtain a result that might in any way be considered as doubtful.

This demonstrates, therefore, that the precipitinogens for certain animal species may not act as such on others ones, although these may react with precipitins on other fractions of the serum employed.

Studies on rabbits, with dysentery antitoxin gave us completely different results.

Technic:

We placed 0,1 of anti-Shiga serum, concentrated 6 times, together with precipitating serum of 16 days, of 4 days, and normal rabbit serum for two hours at 37° Centigrade. This mixture, after centrifugation and decantation, inoculated in the marginal vein of the ear, was followed after half an hour, and this time in the vein of the opposite ear, by an inoculation of 0,4 of Shiga extract.

1rst Rabbit — 1 cc. 16th day ser. — 0,1 Shiga s. — 0,4 Shiga extract.

2nd Rabbit — 1 cc. 4th day ser. — 0,1 Shiga s. — 0,4 Shiga extract.

3rd Rabbit—1 cc. norm. rabb. ser.—0,1 Shiga extract.

4th Rabbit — 0,1 Shiga s. — 0,4 Shiga extract.

The first rabbit died within three days with generalised paralysis, the second one, which had shown itself to be almost entirely paralytic from the second day on, resisted until the ninth day. The remaining two animals showed no no alteration of their state of health.

Upon repeating these experiments we obtained similar results. The first rabbit died on the 3rd day, the second on the 7th, with initial paralysis on the 2nd. The precipitating serum of 4 days. used in this case, had proved itself to be entirely incapable of removing the tetanus antitoxin from the antitoxic serum. Extending our investigations to the agglutinins, we employed not only the technic of KRAUS and PRIBRAM, starting from initial dilutions to make the successive dilutions, but using also for every dilution to which germs had to be added, 0,5 of precipitating serum.

Technic:

To each tube containing 0,5 of precipitating serum were added 0,5 of dilutions at 1/25, 1/125, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000 of dysentery agglutinating serum and after two hours in the incubator at 37°. Centigrade, the precipitates formed were removed by centrifugation and decantation. Placing now in each tube 1 cc. of an emulsion of Shiga bac., the mixture was placed in the incubator for another two hours and then results were read.

We made several series for the precipitins we had, of 4, 10, 16, 21, and 26 days.

Agglutination was positive up to 1/16000 (last tube) in the series in which 4th day precipitins were used and completely negative in all the others, right from the first tube, although the dilution of the serum employed did not exceed 1/25.

A control series showed that the serum was agglutinating up to 1/500.

The agglutination up to 1/16000 in the series of precipitins of the 4th day was due to the rabbit serum used.

For typhus agglutinins the serum employed was agglutinating for the sample used up to 1/10.000.

As before for dysentery bacilli the agglutination was negative with precipitins of 10th, 16th, 21th, and 26th days and positive with the one of the fourth day. Besides the technic indicated above, we made series of dilutions with agglutinating serum at 1/500 and 1/1000 in 0,5 cc. which we added to 0,5 of the precipitating sera. After the lapse of time indicated for remaining in the incubator and after removing the precipitate, we took the remaining liquid for making dilutions which we mixed with emulsions of typhus bacilli permitted up to obtain titres of 1/1000, 1/2000, 1/3000, 1/8000, 1/16.000, 1/32.000, 1/64.000.

The reading permitted here also with the precipitins of the 4th day positive agglutination up to 1/32.000; this was probably owing to the rabbit serum.

These indications show that different antibodies are to be found in circulation as parts of different precipitinogens, which can be partially distinguished by the delay with which the production of precipitins takes place in the organism of the rabbit. Thus the dysentery antitoxin is already partially precipitated by precipitins of the fourth day, whilst agglutinins for the same germ are only precipitated by sera of the tenth day and the antitoxin is only removed from antitoxic serum by sera older still (16 days).

For the two agglutinins we investigated, the precipitation began with sera of the same date, whereas with the diphtheria and bothropic antitoxins it was always impossible to obtain positive results, in spite of all the trouble we took

in the examination of the matter. Thus we come to the conclusion that the the different antibodies are found tied to different precipitinogens, some of which can be easily differentiated and others in which this differentiation is affected by the fact that they cause a more or less equal period on incubation in the rabbit. KRAUS and PRIBRAM even think on account of the fact that some precipitins remove from a certain quantity of determined sera one germ alone and need very much more precipitating serum to produce the same effect in agglutinins of other animals of the same species, that the same antibody may be tied to different precipitinogens in the same animals (horse). This conclusions seem to us to go to far and we believe that it is really rather a case of a quantitative ratio between the precipitinogen to which the agglutinin is tied and the part of this same precipitinogen without agglutiniting groups which circulates certainly side by side with it, and which is, precipitated by the same kind of precipitins.

As seemed most strongly indicated, we started the study of the relations of precipitins to other antibodies (agglutinatins and antitoxins).

A rabbit marked with picric acid, was inoculated on:

Jan. 24, 1920 with 10 cc. of an emulsion of B. mallei killed.

Jan. 28, 1920 at 70° C. by two hours exposure and simultaneously.

Feb. 2, 1920 with 10 cc. of normal horse serum.

Bled on Feb. 9, 1920 it gave precipitating serum up to 1/10.000 and agglutinins up to 1/1600.

Technic:

To 0,5 of rabbit serum were added decreasing quantities of horse serum at 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000, 1/100.000. After two hours in the incubator at 37° C. and 24 hours in the refrigerator, the precipitates formed were removed by centrifugation and decantation and the supernatant liquids were diluted in such a way as to obtain serum dilutions at 1/200, 1/400 etc. up to 1/6400, after having added to each tube 1 cc. of an emulsion of the germs. Control tubes treated in the same way had the precipitinogenic horse serum subtituted by physiologic saline solution.

Reading was done after 24 hours in the incubator at 37° C. In all the tubes, even in the first, one, in which precipitation was thy plentiful, the remaining liquid agglutinated the germs up to 1/1600 as in the control tubes.

The conclusion to be drawn is that the precipitins are not tied in the serum to the fraction to which the agglutinins belong and that the removal of this fraction does not give the agglutinins either greater affinity or greater activity for the specific germs.

With the antitoxins we were led to a similar result:

A horse was inoculated on:

Sep. 17, 1919 with 100 cc. of tetanus toxoids.

Sep. 25, 1919 with 250 cc. of tetanus toxoids.

Oct. 6, 1919 with 250 cc. of tetanus toxoids.

Oct. 17, 1919 with 300 cc. of tetanus toxoids.

Oct. 29, 1919 with 400 cc. of tetanus toxoids.

Nov. 9, 1919 with 400 cc. of tetanus toxoids.

Nov. 19, 1919 with 450 cc. of tetanus toxoids.

Nov. 27, 1919 with 100 cc. of toxin and formol (3 days contact).

Dec. 10, 1919 with 150 cc. of toxin.

Dec. 18, 1919 with 200 cc. of toxin.

Dec. 19, 1919 with 500 cc. of normal sheep serum.

Dec. 30, 1919 with 250 cc. of toxin.

Dec. 31, 1919 with 250 cc. of normal sheep serum.

Bled on Jan. 9, 1920, this animal furnished antitoxic serum with 500 A. U. per cubic centimetre and precipitating up to 1/100.

On Jan. 15, 1920, to 0,5 of the serum of this horse sheep serum diluted at 1/10 was added. After two hours at 37°C. and 24 hours in the refrigerator it was centrifugated and the liquid poured off was diluted in such a manner that the antitoxic serum became diluted at 1/1.000, 1/2.000, and 1/5.000. Controls accompanied this process with physiologic saline solution instead of sheep serum. To each dilution was added the control dosis and after an hour's interval the inoculations were made on guinea pigs of 350 grammes.

1rst g.-p. — 1/1000 precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

2nd g.-p. — 1/2000 precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

3rd g.-p. — 1/5000 precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

4th g.-p.—1/1000 non precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

5th g.-p.—1/2000 non precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

6th g.-p.—1/5000 non precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

The third and the sixth guinea pigs died of tetanus on Jan. 20; the remaining four survived.

A goat was inoculated on:

Oct. 28, 1919 with 50 cc. of toxoids.
Nov. 7, 1919 with 100 cc. of toxoids.
Nov. 17, 1919 with 100 cc. of toxoids.
Nov. 27, 1919 with 150 cc. of toxoids.
Dec. 10, 1919 with 150 cc. of toxoids.
Dec. 20, 1919 with 20 cc. of toxin.
Dec. 30, 1919 with 40 cc. of toxin.
Jan. 9, 1920 with 50 cc. of toxin.
Jan. 19, 1920 with 50 cc. of toxin.
Jan. 20, 1920 with 100 cc. of normal horse serum.
Jan. 29, 1920 with 50 cc. of toxin.
Jan. 30, 1920 with 100 cc. of normal horse serum.

This animal was bled on Feb. 2, 1920; the serum contained 50 U. A. per cubic centimetre and precipitated up to 1/1000.

The technic used in this case was exactly equal to the preceding one, the serum was precipitated by a dilution at 1/10, the precipitate being more abundant in this tube.

1rst guin. pig.—1/500 precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

2nd guin. pig.—1/1000 precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

3rd guin. pig.—1/500 non precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

4th guin. pig.—1/1000 non precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

Second and fourth guinea pigs died in the course of the second day, third one during the afternoon of the fourth day and first one was found dead on the fifth day.

Thus here also one sees that the removal of the fraction of the serum which constitutes in them their precipitating part is entirely independent of the part formed by antitoxin in animals of a different species. The removal of this part does not give the sera higher antitoxic powers nor greater affinity for the toxin.

Rio, March the 12th, 1920.

Uber cine Amöbe der Gattung VAHLKAMPFIA beim Menschen

von

CESAR PINTO.

(Tafel. 7).

Die Gattung *Vahlkampfia* CHATTON et BONNAIRE, 1912 wurde für die freilebenden Amöben aufgestelt, die unter dem Namen *Limaxamöben* bekannt waren. Es sind Rhizopoden von 5—30 mikra Laenge, bilden gewöhnlich nur ein Pseudopodium (Lobopodium), welches nach vorn gerichtet ist, mit oder ohne Vakuolen; einfacher Kernbau, Kernteilung (Naeglers Promitose) und endlich Zysten mit einem Kern.

ALEXEIEFF behauptet, dass die *Vahlkampfia* niemals Parasiten seien und dass ihre Zysten den Verdauungsapparat verschiedener Tiere passiren können und die Amöben die Zysten erst in den Faeces verlassen.

Diese Beauptung ALEXEIEFFS widerspricht den Beobachtungen von CHATTON, BONNAIRE, WHITMORE, HARTMANN, HOGUE und den meinigen. Die beiden ersten Forscher fanden vegetative Formen der *Vahlkampfia* im Stuhl des Menschen; WHITMORE kultivierte die *Vahlkampfia whitmorei* HART, im Eiter eines Leberabszesses und dreizehnmal im Kote von Dysenteriekranken; HOGUE beobachtete Exemplaire der fraglichen Gattung in Austern.

In einem Falle von Dysenterie mit zahlreichen *Giardia intestinalis* (LAMBL) stellte ich die *Vahlkampfia macronucleata* im Kote fest, ebenso fand ich sie in einem andern Falle von Amöbendysenterie *(Entamoeba histolytica* SCH.,)

Gattung *Vahlkampfia* CHATTON et BONNAIRE, 1912.

Syn: *Naegleria* ALEXEIEFF, 1912

Diagnose: «Amöben von geringer Grösse; Bewegung gewöhnlich mittelst eines breiten Pseudopodiums (Lobopodiums); manchmal bilden sich auch viele Pseudopodien. Besitzt eine pulsierende Vakuole.

Einkernig mit grossem dichtem und chromophilem Karyosom, arm an peri-

pherischem Chromatin (Protokaryon). Kernteilung charakteristisch durch grosse Polkörper, welche im Karyosom entstehen. Die Aequatorialplatte bildet sich hauptsächlich auf Kosten des peripherischen Chromatins.

Einkernige Zysten mit chromatoiden Körpern, welche in den alten Zysten verschwinden.

Im Flagellarzustand mit zwei Geisseln».

F. DOFLEIN rechnet die Amöben der Gattung *Vahlkampfia* zu einer Familie, der er *Bistadiidae* DOF., nennt. Nach den Regeln der zoologischen Nomenklatur sollte der Name einer Familie, der typischen Gattung entnommen werden, und so müsste eigentlich die Bezeichnung *Trimastigamoebidae* vorgehen, weil die Gattung *Trimastigamoeba* WHITMORE zuerst aufgestellt wurde.

Diagnose der Familie: «Rhizopoden, die dadurch charakterisiert sind, dass sie ein Geisselstadium und ein geisselloses besitzen. In diesem letzten Stadium besitzen die Protozoen amöbenartige Bewegung, haben Lopodien und nähren sich nach Art der Amöben. Es scheint, dass es Formen mit einer, zwei und drei Geisseln gibt. Teilung kennt man nur im Amöbenstadium. Die Formen sind einkernig und haben einen Kern mit bläschenförmigen Karyosom. Zysten einkernig.

Typische Gattung: *Trimastigamoeba* WHITMORE.

Vahlkampfia macronucleata PINTO, 1921.
(Tafel 7).

Bibliographie: C. PINTO, 1921, *in* Brazil-Medico. Anno 35, vol. 1, N°. 18, pp. 222—3.

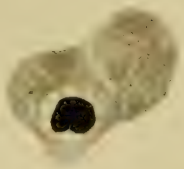
Grösste Länge 14,4 mikra; Breite 8 mikra. Figur 1 der Tafel 7 stellt das grösste gefundene Exemplar dar. Es besteht kein Unterschied zwischen Ektoplasma und Entoplasma, welches BUETSCHLI's Schaumstruktur besitzt; es hat weder Vakuole noch Einschlüsse. Der Kern lenkt im vegetativen Stadium durch seine Grösse sofort die Aufmerksamkeit auf sich, denn er nimmt die Hälfte der Breite des Rhizopoden ein und gibt ihm seine charakteristische Form. Sein Durchmesser beträgt 4 mikra. Eine deutliche Kernmembran existent nicht (Taf. 7 Fig. 1—5). Die Kernsaftzone (Taf. 7, Fig. 1—5) besitzt kein Chromatin; man sieht genau die Lininfäden, welche vom Karyosom ausgehen und nach der Kernperipherie laufen. Karyosom gross und rund (Taf. 7, Fig. 1) von 3,2 mikra Durchmesser. Figur 4 der Taf. 7 zeigt das kleinste Exemplar dieser *Vahlkampfia*, deren Kern ebenfalls gross ist und die chromatinarme Kensaftzone besitzt.

Praezystische Formen (Taf. 7, Fig. 6—9 rundlich, 9 mikra im Durchmesser; bei einer (Fig. 7) sieht man den Kern in der Teilung.

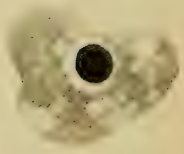
Habitat: Freilebende Amöbe beim Menschen.

Den Herren Dr. ALVARO LOBO, Dr. COSTA CRUZ und JULIO MUNIZ danke ich für das gelieferte Material.

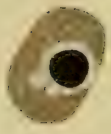
1



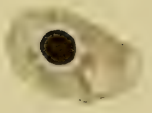
2



3

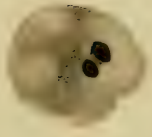


4

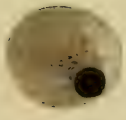


5

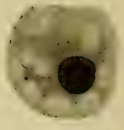
6



7



8



9

Castro Silva e Kattenbach, del.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Zeichnungen wurden angefertigt von Ausstrichen menschlichen Kots, die mit Alkoholsublimat nach SCHAUDINN fixiert und nach HEIDENHAIN'S klassischer Methode gefärbt wurden.

Die Figuren 1, 4, 5, 7, 8 und 9 wurden gezeichnet mit dem Abbéschen Zeichenapparat in der Höhe des Arbeitstisches. Okular 5, Immersionsobjektiv 1/12. Mikroskop von ZEISS.

Die Figuren 2 und 3 wurden gezeichnet mit Okular 12 (Kompentionsokular) und Immersionsobjektiv 1/12; Fig. 6 mit Okular 4 und Imm. 1/12.

Figur 1 stellt die vegetative Form dar; man bemerkt den Anfang der Pseudopodienbildung am vorderen Teile des Rhizopoden. Grosser Kern mit rundem Karyosom, chromatinarme Kernsaftzone und Lininfäden, welche vom Karyosom zur Kernperipherie verlaufen. Keine Einschlüsse, keine Vakuolen.

Fig. 2, 3, 4 und 5 kleinere Formen der *Vahlkampfia macronucleata;* bei Fig. 2 sieht man eine Einbuchtung des Karyosoms.

Fig. 6, 7, 8 und 9 praezystische Formen der *Vahlkampfia;* in Fig. 7 sieht man die Kernteilung.

ENTOMOLOGICAL NOTES

II.

ON THE ANATOMY

OF

THE GENUS TRIATOMA.

Salivary apparatus

by

DR. ANTONIO LUIS de B. BARRETO.

Auxil. Assistant of the Instituto Oswaldo Cruz

(Plates 8—12).

In studying the salivary apparatus of the genus Triatoma we began by dissecting the specimens under liquid; this allows to observe the arrangement of the different parts of the apparatus *in situ* and to follow the delicate excretory ducts which connect the same. Needless to say, much labour and patience were required to prepare these delicate and fragile organs.

The positions of the different parts of the salivary apparatus in relation to the digestive tube were observed by means of stained sections of the thoracic block, embedded in parafine, after the indispensable fixation in 10 % formol.

Inclusions of the different glands in paraffine and celloidin, after fixation in sublimate-alcool, furnished sections which were used for histological purposes after staining with hematoxilin-eosine.

———

The salivary apparatus of the genus *Triatoma* is found at the level of the anterior part of the digestive tube and does not reach beyond the proventriculus. It is composed of three pairs of symmetrical glands, which differ in shape and position; they are connected by a system of excretory ducts and open into a small single organ, known as *salivary pump*, as

it expells the liquid formed in the glands.

In the following description I shall deal first with one half of the apparatus, that is the glands and ducts on the right side of the digestive tube, and afterwards with the impair organ *(salivary pump)* which expells the saliva.

Accessory gland.

The posterior gland is rounded, has very thin and transparent walls and is closely connected with the walls of the proventriculus by branches of the tracheas.

It is easily distinguished from the surrounding tissues, if the head of the specimen be severed on the day preceding examination, as the citrine liquid which accumulates within, distends its walls and makes it more conspicuous.

In adult specimens of *Triatoma megista* it has the following dimensions.

♂ Length: 1,35 mm.
Width: 1,2 mm.

♀ Length: 1,4 mm.
Width: 1,3 mm.

As for its structure, it is composed of a delicate basal membrane and a layer of flattened pavement cells. It is considered a mere deposit or receptacle of saliva, as expressed in the denomination *Accessory salivary gland.*

At the anterior and external pole of this gland begins an excretory tube, which is the *accessory duct;* it runs parallel with the oesophagus, penetrates into the cephalic cavity, describes a loop after which it runs in the opposite direction and finally opens into the middle or supplementary gland. The measurements of the accessory duct are as following:

♂ Length: total: 6,0 mm.; to the: loop 3,5 mm.; reflected part: 2,5 mm.
Width: greatest: 0,1 mm.; smallest: 0,045 mm.

♀ Length: total: 7,5 mm.; to the loop: 4,0 mm.; reflected part: 3,5 mm.
Width: greatest: 0,12 mm.; smallest: 0,050 mm.

Supplementary gland.

The supplementary gland is a little above the former one, at the side of the initial portion of the proventriculus. The connection between it and the principal gland is so close that some authors consider it a diverticle of the same.

It is pear-shaped and has the following dimensions:

♂ Length: 1,2 mm.
Width: 0,62 mm.

♀ Length: 1,12 mm.
Width: 0,64 mm.

The structure in the same as that of the accessory gland, that is a single layer of cells on a basal membrane. This histological identity leads me to consider it also merely as a receptacle of saliva.

The other end of the accessory duct opens in its middle part.

Principal gland.

The principal gland is directly connected with the supplementary gland and occupies a place in front and outwards of the same. It is easily distinguished from the others, which are light and transparent, by its remarkable opacity and dirty yellow color.

It is kidney-shaped and has the following proportions:

♂ Length: 1,25 mm.
Width: 1,0 mm.

♀ Length: 1,37 mm.
Width: 1,08 mm.

The histological structure of this gland is very different from that of the former, as it is typically glandular with high, polyedric glandular cells, often

opening into the cavity of the gland and showing granular protoplasm and a typical nucleus with chromatine in the shape of chromosomes.

This is the very organ by which the saliva is produced.

At the narrowest point, that is at the hilus (which is in close connection with the part of the supplementary gland where the accessory duct ends), begins the *principal duct* which is parallel to the first and enters the cephalic cavity, opening into the salivary pump, either independently or forming by anastomosis a single duct with the one of the opposite side.

The dimensions are:

♂ {Length: 5,30 mm.
{Width: 0,60 mm.

♀ {Length: 6,40 mm.
{Width: 0,65 mm.

Salivary pump.

The impair organ of the salivary apparatus, *salivary* pump or *receptacle* of the *Triatoma* is a conic chamber with strongly chitinised walls, inside which moves a very characteristic piston or embolus.

It is found in the cephalic cavity below the pharynx, on the ventral side of the body. The only way to distinguish its minor details is to sever the upper half of the head by two lateral incisions after keeping it for 8 to 10 days in a 40% solution of potash or soda.

At the anterior end this gland forms an elongated canal, coming into contact with the mandibles; posteriorly it is closed by a delicate and flexible membrane. The *embolus* is moved by a set of oblique, antagonistic, protracting and retracting muscles, the movement of which causes the aspiration of saliva into the interior of the chitinous receptacle and its expulsion through the *salivary duct* which is found in the proboscis and is formed, as we have seen before (1), by the application of one mandible to the other.

Physiology.

Given the anatomy and the structure of the different parts of the salivary apparatus of the *Triatoma,* it is easy to understand the functioning of the same.

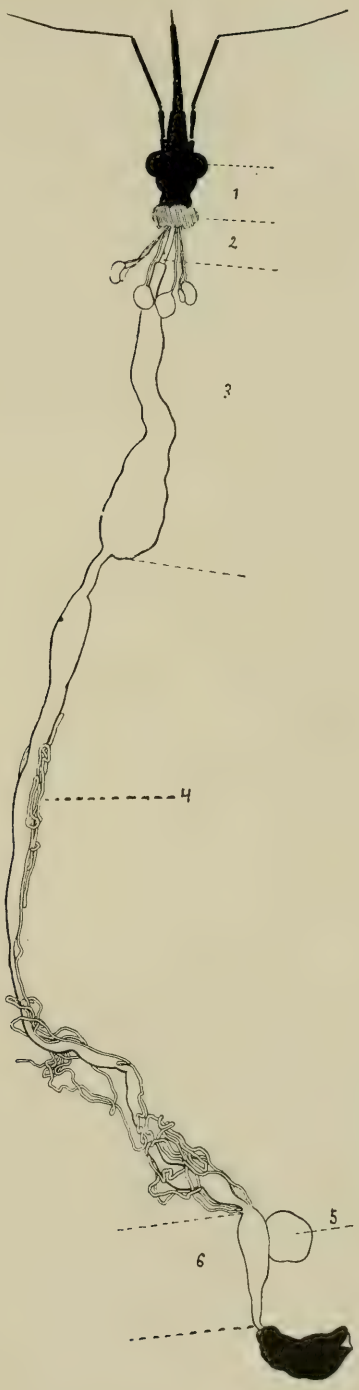
The saliva is formed only in the principal gland, which is the only one that shows a typic glandular texture; it passes out through the principal duct to the salivary pump, from which it is expelled through the salivary tube found in the proboscis.

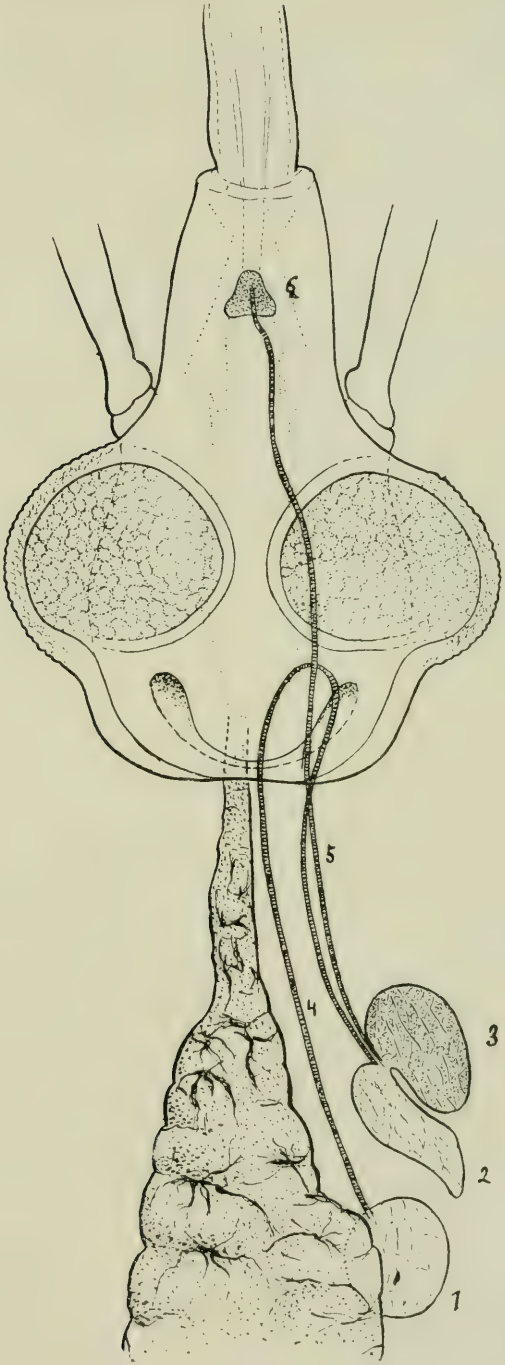
As for the supplementary and accessory glands, I believe them to be simple receptacles or deposits for saliva, where the excess of the principal gland is stored.

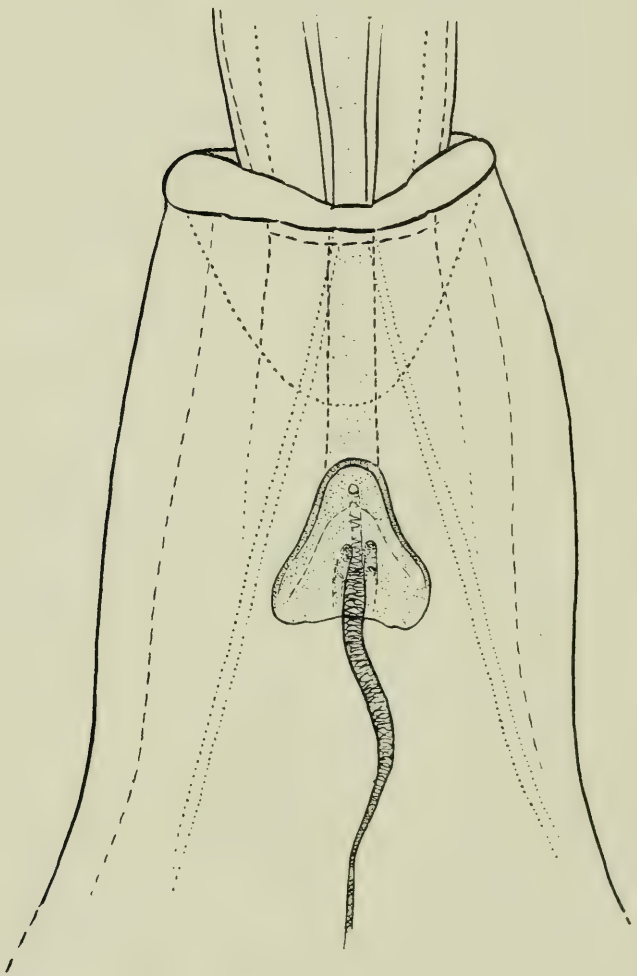
When the saliva in the principal gland is insufficient for the demands, the reserve accummulated in the other two glands comes into play, running out through the principal gland, thanks to the communication between the principal duct, at its origin, and the accessory one.

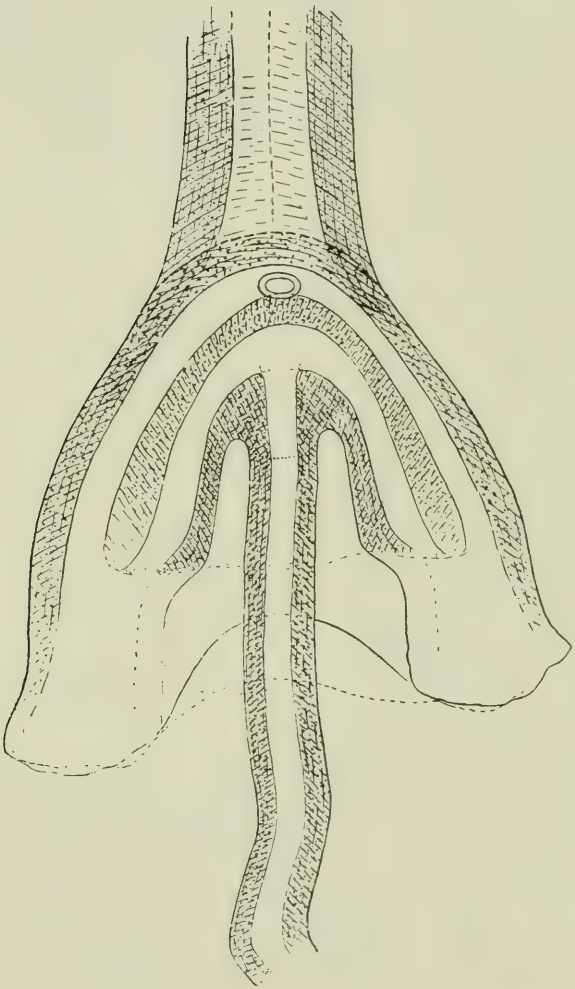
---

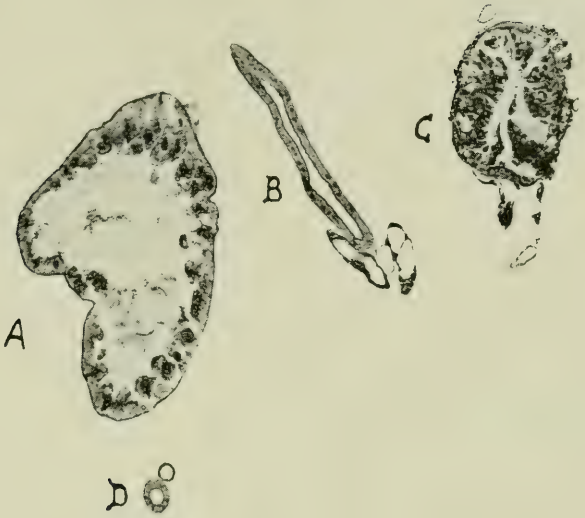
(1) See: Barreto, A. L. B. Notas entomologicas I. Estudos sobre a anatomia do genero *Triatoma*: Proboscida e tubo digestivo. (Brasil Medico Anno 3. 1919. N. 21. pag. 161.)


1
2
3
4
5
6

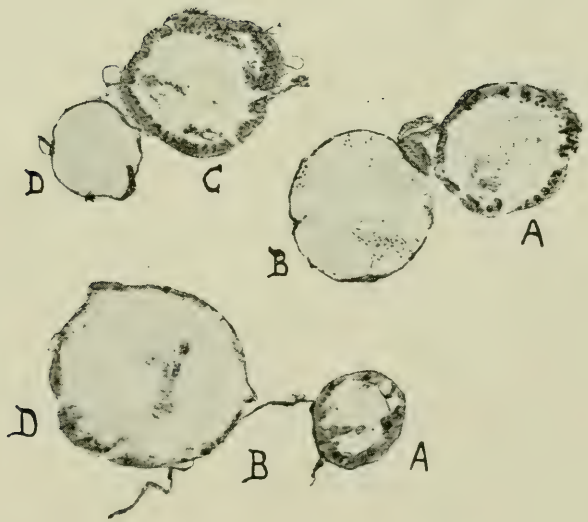

6
5
4
3
2
1







1



2

Un Cas de Môle Compliqué de Chorio-Carcinome

par le

Dr. Oswino Alvares Penna

(Avec les Planches 13—16).

Section d'Anatomie Pathologique de l'Instituto Oswado Cruz

L'observation que nous présentons ne vient pas précisément ouvrir de nouveaux horizons dans l'étude des chorio-carcinomes; elle nous offre à peine l'heureuse occasion de suivre les diverses phases de l'évolution d'une de ces tumeurs, grâce à l'amabilité de M. le Dr. CAMILLO BICALHO.

Notre confrère qui a fait l'observation clinique en donne le rapport suivant:

« A. F., blanche, portugaise, agée de 27 ans, mariée, de bonne constitution.

Antécédents: héréditaires, bons.

Individuels: Tempérament excessivement nerveux. La malade n'a eu aucune maladie grave: elle se plaint de l'estomac. Des deux enfants qu'elle a eus, le premier, qui a été extrait à forceps, est actuellement agé de cinq ans, tandis que le deuxième, né après accouchement normal, est mort à deux ans et serait aujourd'hui âgé de quatre. Les grossesses ont été pénibles avec des accidents nerveux et surtout des troubles de l'estomac (vomissements incoërcibles). Elle n'a jamais avorté.

Premier éxamen le 15 Janvier 1920. La malade se croit enceinte depuis deux mois: ses règles ont cessé depuis Novembre et depuis ce temps elle souffre de l'estomac. M. le Dr. PAES BARRETO la traite depuis cinq jours parce qu'elle vomite toute ce qu'elle avale même l'eau; elle a eu de petites hémorrhagies utérines sans douleurs. Elle ne supporte aucun médicament dans l'estomac.

L'éxamen local révèle un utérus médian de consistance molle très grand pour deux mois: col normalement mou et fermé. Pas de fièvre: pouls petit (moyenne de 90 a 100 par minute).

Toute médication interne est impossible puisque la malade ne le tolère guère. Les applications de glace sur l'estomac soulagent les vomissements. Injections de huile camphrée et irrigations vaginales. Les hémorrhagies et

vomissements continuent en s'améliorant et en s'aggravant alternativement. Les hémorrhagies sont peu importantes et s'espacent de deux à trois jours. Les injections de sérum hormo-gravidique ne donnent aucun résultat tandis que l'adrénaline, en injections journalières, soulage les vomissements.

Peu à peu les symptômes s'améliorent et il semble que tout rentre dans l'ordre. Le 21 Janvier je suspends mes visites.

Le 13 Février je suis appelé à nouveau parce que tous les symptômes s'étaient renouvelés. La malade déclare que les troubles de l'estomac n'avaient pas cessé, mais que les hémorrhagies n'étaient revenues que ce jour même en coïncidant avec des vomissements rebelles. La malade avait perdu sa bonne mine, était dévenue maigre et se sentait faible. L'utérus s'est augmenté outre mesure de volume et donne l'impression d'une grossesse de six ou sept mois: il est d'une consistance molle et pâteuse, douloureux a l'éxamen. On n'entend pas de bruit cardiaque ni de souffle placentaire; col mou et fermé. Le contact du doigt dans le col utérin provoque des vomissements immédiats en causant du malaise et en aggravant l'état. Le pouls varie entre 100 et 120; pas de fièvre. A l'éxamen les urines sont normales.

Quoique sans danger précis, l'état général de la malade, qu'aggravent les vomissements, ainsi que l'évolution anormale de la pseudo-grossesse m'impressionne et je propose une opération pour vider l'utérus, qui est refusée. J'interromps nouvellement mes visites. Le 25 Février de très bonne heure on m'appele. La malade est très amaigrie, anémique et affaiblie. Pouls 140: pas de fièvre. Utérus peut-être encore plus grand que dans une grossesse normale de neuf mois. Je déclare ne plus rien entreprendre sauf l'opération, qui était dévenue urgente et même dangereuse; deux ou trois heures après la malade expulse rapidement une môle hydatiforme de 4 kg. Au sein des hydatides, du coagulum et du liquide, rien ne ressemble à un embryon. La température atteint 37.8°C. pouls de 160. Injections de sérum physiologique etc. État général extrêmement défavorable: le toucher digital démontre qu'il reste encore quelque chose dans l'utérus.

La malade se plaint de douleurs dans le ventre, surtout dans l'ovaire droit, Impressionée par l'aspect des masses expulsées la famille permet le curettage utérin qui est éffectué le matin du 26, l'état général étant toujours défavorable. Après le curettage instrumental, en examinant le ventre on perçoit l'utérus petit et rond au dessus du pubis et on observe nettement trois autres tumeurs indépendantes entre elles et indépendantes de l'utérus. Toutes les trois sont assez douloureuses; l'une, de la grandeur d'une mandarine, dans l'ovaire droit; une autre, un peu plus grande et un peu moins douloureuse, dans l'ovaire gauche: et une troisième, trois fois plus volumineuse que celle-ci, mobile, bien définie plus ou moins lisse, allongée dans le sens longitidunal du corps, comme si elle reposait sur l'aorte un peu à gauche de la ligne médiane et un peu au-dessus de l'ombilic, tres douloureuse.

Des observations journalières de la maison de santé, j'extrais les données suivantes:

Le 26—L'état de la malade est toujours défavorable: pouls 120, vomissements fréquents—défaillances.

Le 27—État toujours défavorable—Médication le matin: lavage et drenage utérins (gaze iodoformée) après la médication l'état de la malade s'aggrave, surtout en ce qui se rapporte aux vomissements—l'après—midi j'ai retiré la gaze de l'utérus ce qui la soulagea un peu.

Le 28—État toujours défavorable, injections d'adrénaline, caféine, huile camphrée et sérum; on continue les applications de glace sur l'estomac; lavage

utérin, sans drenage (après la médication, aggravation passagère de l'état de la malade).

Le 29—Aucun changement dans l'état de la malade—Injections de lantol le matin et l'après—midi, avec de bons résultats (V. le Tableau de la Température)—les vomissements tendent a s'améliorer—lavage vaginal simple—légerement sanguinolent.

Le 1 Avril—Les progrès s'accentuent—déjà peu de vomissements.

Pendant quelques jours on continua les lavages vaginaux simples, les injections de lantol, et de huile camphrée.

Le 6 Avril la malade quitte la maison de santé. Elle a perdu environ les deux cinquièmes de son poids et ne peut se tenir debout. Anémie notable. Elle se nourrit passablement. La température est normale; pouls 90 et 100. Le ventre est flaccide, avec deux tumeurs seulement puisque celle de l'ovaire droit est disparue. Les deux restants semblent aggrandies quoique moins douloureuses.

Chez elle la malade est confiée aux soins de son mèdecin afin de récupérer ses forces de façon à pouvoir supporter l'opération, qui me parait indispensable: histérectomie et (si possible) extirpation des deux tumeurs dont je ne puis préciser la nature mais qui me paraissent être des métastases du chorio-épithéliome utérin.

Le 11 Mai nouvel éxamen de la malade: son état général est assez satisfaisant: elle se nourrit bien et continue à augmenter de poids en regagnant sa bonne mine. Elle a eu des règles avec peu de sang et de faibles douleurs.

Le toucher vaginal révèle un utérus presque indolore de grandeur et consistance normales. L'éxamen du ventre ne permet d'observer de tumeur d'aucune sorte (!). La région des ovaires est parfaitement flaccide et indolore. A l'emplacement de la plus grande tumeur un empâtement douteux avec une légère sensibilité que je ne sais si on pourrait attribuer à la tumeur.

Ces tumeurs tellement nettes qu'elles avaient été perçues par l'infirmière sans que je les fui eusse montrés ont été constatées par MM. les Drs. CARLOS WERNECK et PAES BARRETO aussi et je les avais sentis encore un mois après sa sortie de la Maison de Santé.

La malade ne veut rien savoir d'une opération.

Le 25 Septembre je suis appelé de nouveau. La malade a presque regagné son poids normal est sa bonne mine. Elle s'était très bien portée jusqu'à deux mois auparavant. Les règles qui auraient du avoir lieu le 20 Juillet firent défaut. Elle se croit grosse depuis ce temps d'autant plus que depuis lors elle a souffert de l'estomac. Depuis le jour précédent les vomissements répétés ont repris et elle a eu de petites pertes sanguinolentes. L'éxamen révèle un utérus non douloureux, gros pour deux mois de grossesse; le col est mou et fermé. Le toucher digital provoque des nausées. Pouls de 100; pas de fièvre.

Je déclarai n'entreprendre le traitement de la malade qu'à condition de pouvoir l'opérer dans deux ou trois jours.

Le 26, de très bonne heure, la malade éprouve une abondante hémorrhagie. Je la trouve couchée au milieu de très grandes masses de sang coagulé, exsangue presque, et avec un pouls imperceptible et des collapses répétées. Je fais un fort tamponnement vaginal, des injections cardio-toniques, ergotine et sérum gélatiné en abondance, tandis que je la fais mener à la Maison de Santé.

Ce même matin elle est opérée sous anésthésie par l'éther; hystérectomie totale avec ablation des annexes droits. Dans l'ovaire de ce même coté il y a un petit abcès avec environs 5 cm³. de pus jaune clair. Suture du vagin, sans drenage.

Le ventre ouvert, je recherchai en vain les anciennes tumeurs que j'avais senties. A l'exception du petit abcès de

l'ovaire gauche (que l'examen n'avait pas permis de déceler) rien de suspecte ne fut constaté. Ces nodules ne pourraient-ils être des fécalômes, étant donnée leur grande sensibilité et leur persistance après plus d'un purgatif que la malade avait pris. Métastase régressive?

Les suites de l'opération ont été excellentes: le huitième jour on a ôté les agrafes. Pas d'élévation de température; le pouls s'est remis peu à peu et à ce moment est d'environ 90 par minute.

Le neuvième jour la malade se plaint de points de coté dans la moitié gauche du thorax et l'après-midi elle éprouve une petite élévation de température. Le dixième jour le point de coté subsiste et la température atteint 38°: le crachat est légèrement hémoptoïque. Son médecin, ayant été appelé, constate un foyer congestif du poumon et entreprend le traitement nécéssaire (médication interne, ventouses, injections de huile camphrée et de lantol). Peu à peu la crainte bien fondée d'une métastase pulmonaire semble pouvoir être mise hors de cause par l'évolution de ce foyer congestif vers une pneumonie franche, à moins que le métastase ne se prêtât a cette confusion et regressât très rapidement.

Cette complication intercurrente évolue sans une plus grande gravité et à la 20 ème journée de son séjour la malade quitte la Maison de Santé guérie.

Depuis ce temps, ses progrès sont rapides. Elle parait guérie de son ancienne dyspepsie, s'alimente bien et reprend son poids et sa teinte normale. Le ventre est complètement insensible et la cicatrice vaginale est bonne ainsi que celle de la peau du ventre.

Rio, le 30 Octobre 1920.

Le lendemain de l'éxpulsion de la môle nous sommes allés la chercher chez la malade et nous l'avons trouvée dans un bassin, dans de l'eau courante. Le matériel se composait de vésicules de dimensions variant entre celles d'un gros raisin, et celles de vésicules microscopiques; les unes étaient tenses les autres fanées, quelques unes déchirées, et on voyait des masses de sang coagulé, d'un rouge clair, décolorées naturellement par l'eau qui était fortement teinte en rouge. Le tout pesait environ 4 kg. Nous avons cherché avec ténacité et un grand désir de le trouver, l'embryon, mais en vain: nous n'en avons rencontré pas même des vestiges. Les hydatides étaient d'une couleur brune claire.

La Fig. 1 est une photographie de l'exemplaire conservé dans le liquide de JORES au Musée de l'Instituto Oswaldo Cruz sous la rubrique P. C. 1144.

Nous avons pris beaucoup de ces hydatides, surtout les plus petites pour les faire inclure en paraffine et les faire couper et colorer a l'hématoxyline-éosine. A l'éxamen de ces préparations nous avons constaté que les noyaux des cellules de LANGHANS et des syncytiums n'avaient pas pris d'une manière particulière et élective le colorant basique du mélange, ce que nous pensons attribuer à la longue macération en eau courante qui précéda la fixation.

Avec des légeres variantes les coupes des hydatides examinées montraient la même structure; dans la portion centrale un tissu fibro-muqueux très lâche, qui par endroits paraissait même édémacié, telle était la distension des mailles. Autour de cette formation, une espèce de membrane vitrée, constituée par le tissu fibreux; les fibres conjonctives des mailles paraissaient s'être condensées pour former une capsule de soutien. Disposées verticalement sur cette membrane vitrée, des cellules épithéliales hautes, et sur cette couche cellulaire des masses protoplasmiques à dimensions variables, très écartées les unes des autres et ayant beaucoup de noyaux; les premières étaient des cellules de LANGHANS et les secondes des masses syncytiales. L'étude

de ces cellules n'a pas pu être faite avec détails parce que la structure histologique en avait été altérée par la macération.

Cet aspect est l'indispensable pour permettre de faire un diagnostic de môle, et pour savoir pourquoi, voyons d'abord ce qu'est histologiquement une môle.

La môle est un blastome bénin, structuralement mixte, résultant de l'hyperplasie typique des villosités du chorion, sans néo-formation des vaisseaux ombilicaux. Normalement la villosité est constituée de tissu fibro-muqueux, ayant à la partie centrale un rameau de l'artère ombilicale; ce tissu muqueux est circonscrit par une mince couche de tissu fibreux condensé, d'où partent vers l'intérieur de la villosité des fibres isolées ou réunies. Ces fibres forment des travées qui s'entrecroisent en divers sens pour constituer les mailles qui contiennent le tissu muqueux de la villosité, en tout semblable à la gélatine de WHARTON du cordon. Vers l'extérieur s'ajustent sur ce tissu conjonctif condensé, qui consitue pour la villosité une véritable capsule, des cellules épithéliales pour la plupart de forme polyédrique ou cylindrique, entassées les unes sur les autres et adaptées verticalement à la membrane conjonctive comme si celle-ci était une membrane vitrée. Ces cellules sont les cellules de LANGHANS. Sur ces cellules se trouvent des masses protoplasmiques non contiguës et séparées par des espaces plus ou moins grands de façon à ne pas former une couche continue autour de la villosité. Ces masses protoplasmiques présentent toujours des nombreux noyaux et sont dénominés des syncytiums par les auteurs allemands et des plasmodes par DUVAL. Eh bien, la môle est l'hyperplasie totale de cet ensemble, toutefois avec une hyperplasie relative des cellules épithéliales de la villosité: c'est ainsi qu'augmentent les cellules de LANGHANS et les syncytiums.

Par où une villosité choriale diffère-t-elle d'une hydatide de môle? Les données suivantes nous l'indiquent:

1°) En général toute villosité montre une coupe d'artériole, une autre d'une veinule, des petits rameaux de l'artère et de la veine ombilicales: l'hydatide, au contraire, ne montre généralement pas de coupe de vaisseaux.

2°) Dans l'hydatide, il y a toujours une hyperplasie limitée et ordonnée des cellules de LANGHANS et des syncytiums.

Dans notre cas, ce fut le manque de vaisseaux dans les coupes des diverses hydatides qui nous permit le diagnostic histologique de môle comme on le peut vérifier dans la microphotographie des coupes de quelques hydatides focalisées sous petit grossissement et reproduits dans notre Fig. 2.

Il est aujourd'hui parfaitement établi que la môle est une tumeur, puisqu'elle résulte de l'hyperplasie autonome de certaines cellules déterminées de l'organisme. VIRCHOW l'appela «myxoma chorii», tandis que LANGHANS le contesta démontrant que l'on ne peut caractériser le tissu muqueux ni au point de vue histologique ni par ses réactions microchimiques.

LANGHANS, ORTH et FRANQUE' soutenaient l'opinion qu'il s'agit d'un état œdémateux des villosités du chorion. MARCHAND et FRAENKEL, concordent que dans la môle les altérations de l'épithélium de la villosité et la prolifération irréguliere, surtout de la couche cellulaire de LANGHANS ont la plus grande importance.

DURANTE considère la môle comme un adénome villeux. Dernièrement WERTH (Die extrauterinische Schwangerschaft Handb. der Geburt 1904) revient à parler de la **dégénération** hydropique, à propos du diagnostic de môle extra-utérine dans le cas de grossesse tubaire. Dans ces cas on constate fréquemment la formation de môles et il

l'apelle dégénération hydropique avec macération de l'épithélium chorial. Or la dégénération hydropique ou hydropsie des villosités survient quand celles-ci se détachent de leur pédoncule ou quand il y a un obstacle à la circulation veineuse ombilicale, comme dans l'avortement, par exemple, et ne peut pas être confondue avec la môle, comme l'a démontré WILLIAM MEYER de la Carnegie Institution de Washington.

La môle est une tumeur bénigne puisque l'hyperplasie qui l'occasionne reproduit toujours typiquement la même structure histologique, déjà existante dans l'organisme, la villosité. En plus, elle n'a pas de tendance à envahir les tissus voisins et ne produit pas de métastase à distances. C'est en vue de ce fait que nous avons étés menés par la déscription de métastase dans l'histoire clinique dans le cas présent à penser à une môle suivie de chorio-carcinome.

La môle est une tumeur de stucture mixte, puisqu'elle se forme au dépens de l'hyperplasie simultanée du tissu muqueux et du tissu épithélial; mais ce n'est pas une tumeur mixte tératoïde puisque la môle n'est pas congénitale, devant être comprise dans la classe des *tumeurs mixtes conjonctivo-épithéliales* de ASCHOFF et BORST.

Au point de vue de la structure histologique la môle mérite la dénomination de chorio-myxo-adénome. Chorio indique la localisation, myxome traduit l'hyperplasie du tissu muqueux et adénome montre que les cellules de LANGHANS et les syncytiums sont affectés.

Les cellules de LANGHANS et les syncytiums doivent être considérés comme des cellules épithéliales hautes, surtout les cellules de LANGHANS qui sont parfois même cylindriques. C'est aussi à travers ces cellules que s'éffectuent les échanges nutritifs entre le sang maternel et celui du foetus. La couche formée de ces deux sortes de cellules n'a pas simplesment une fonction dialysatrice mais elle a une fonction de sécrétion et excrétion, qui fait sélection entre les éléments de nutrition du sang maternel utiles a l'embryon; elles jouent donc le rôle de cellules glandulaires et c'est pour cela que nous considérons la tumeur en question comme un adénôme. En vue de leur origine éctodermique ces cellules ont été considérées comme des cellules épithéliales plâtes, d'où la dénomination de chorio-épithéliôme. Mais aujourd'hui c'est un fait accepté que l'éctoderme peut former des cellules épithéliales hautes même cylindriques, ce qui a fait fracasser la classification des épithéliomes en fonction de leur origine blastodermique.

Mais si nous considérons ces cellules épithéliales comme des cellules glandulaires, nous devrons peut-être regarder la villosité comme un acinus glandulaire inverti dans lequel au lieu d'être tournées vers la lumière glandulaire, les cellules épithéliales se seraient rangées du coté éxtérieur de la vitrée. Dans ce cas la môle serait simplement un adénôme et non pas une tumeur conjonctivo-épithéliale; et on ne prendrait pas en considération le tissu conjonctif de la môle comme on ne considère pas le tissu conjonctif des vitrées des acinus glandulaires qui est une néo-formation de l'adénôme, comme partie intégrante de la tumeur. En effet, il est connu que le tissu conjonctif qui forme le squelette, ou soutien des tumeurs épithéliales ne jouit pas des mêmes propriétés que les cellules épithéliales, qui sont des éléments formatifs de ces tumeurs. Ceci a été expérimentalement prouvé dans les cas des tumeurs greffés. Quand on greffe seulement des cellules épithéliales de la tumeur d'un animal chez un autre animal on obtient un néoplasme dans le deuxième formé aux depens des cellules épithéliales du premier; mais le tissu qui soutient les cellules épithéliales se forme aux dépens du deuxième sujet. D'un autre côté quand on retire, par un procès spécial, les

cellules épithéliales d'une tumeur greffable, et ne fait la greffe que du tissu conjonctif la tumeur ne se reproduit pas.

En tenant compte de ces faits, il paraîtrait à premier abord que la môle doit être considérée comme un adénôme simple; mais il ne faut pas perdre de vue que l'hydatide n'est pas un acinus glandulaire et que le tissu conjonctif de la môle est formé d'une grande quantité de tissu muqueux hyperplasié qui ne joue pas le rôle de soutien des cellules épithéliales, tandis que dans l'acinus glandulaire néo-formé de l'adénôme le tissu conjonctif est représenté seulement par du tissu fibreux dont le seul rôle est de servir de squelette aux cellules épithéliales.

Dans notre cas ni le Dr. CAMILLO BICALHO ni moi n'avons trouvé aucune trace d'embryon. Il parait, cependant que ceci soit la règle dans la môle avec grossesses de deux mois et c'ést pourqui on la dénomine «*môle stérile*». Je n'oserai pas proposer la dénomination longue de chorio-myxo-adénome pour substituer celle de môle, celle-ci ne pouvant pas être mise de côté. Le môt môle correspond pour le public en général a un aspect macroscopique, anatomo-pathologique très caractéristique et il serait absurde de vouloir la substituer par un autre nom qui correspond aux caractères microscopiques connus de relativement peu de gens. Ceci ne s'applique cependant pas au cas de la dénomination chorio-épithéliome.

Le môt môle dérive de *μύλη, ης* qui signifie faux germe, et, en effet, au point de vue clinique la môle simule la grossesse. Au point de vue macroscopique cette définion est complétée par le qualificatif hydatiforme. Le nom chorio.-myxo-adénome viendrait tout au plus définir la môle.

Quelque temps après l'étude de la môle en question nous avons reçu de M. le Dr. CAMILLO BICALHO la pièce anatomique obtenue par l'hystérectomie totale et ovariotomie pratiquées chez cette malade.

Á l'éxamen macroscopique la pièce se composait de l'utérus entier, corps et col, l'ovaire et de la trompe gauches. L'ovaire augmenté de volume, déchiré à une de ses faces présente une cavité de trois centimètres au plus grand diamètre, avec paroi épaisse de 0,5cm. La surface extérieure est lisse et brillante, la surface interne rugueuse, rouge sombre et contient des restes d'un liquide épais, sombre et sanguinolent. Contre une des parois de la cavité, on voit une masse jaunâtre bien délimitée, constituant, probablement la cicatrice du corps jaune.

La trompe ne parait pas altérée.

La portion utérine de la pièce mesure 11×10×9 cm. Quand elle est arrivée au laboratoire, peu après l'opération elle était déja ouverte dans la partie antéro-médiane. La paroi de l'utérus épaisse de 3 cm près du fond et de 2 cm au voisinage du col.

La cavité utérine dilatée, largement ouverte par l'incision est totalement occupée par une masse à deux aspects macroscopiques tres différents et de volume presque égal. La portion plus grande, plus voisine du fond de l'utérus est formée de grappes hydatiques très petites d'un jaune pâle et de la grandeur moyenne d'un grain de maïs, entre lesquelles se trouvent des petits caillots rouges. La portion plus petite du contenu utérin située près du col est composée d'un grand caillot rouge, plus ou moins rond, régulier, limité à la face externe et fortement adhérent à la paroi postérieure de l'utérus. A l'intérieur du caillot on rencontré des petites hydatides éparses. Le contenu, mesure au total, 8×5×3 cm.

L'examen du myomètre à l'incision de la paroi montre qu'il est blanchâtre et très dur au toucher. De loin en loin des coupes de vaisseaux.

Un examen attentif montre des brides plus ou moins épaisses, s'irradiant

de la cavité utérine vers le périmètre, mais se perdant dans les tissus du myomètre avant de l'atteindre. L'endomètre n'a pas été examiné en détail afin de ne pas nuire a la conservation de la pièce anatomique, d'autant plus que cette étude n'offrait aucun avantage pour l'étude. La pièce se trouve au Musée de l'Institut, étant reproduite dans la Fig. 3 vue de face et dans la Fig. 4 vue de côté. Dans la Fig. 4 on voit les points d'où ont été retirés des fragments pour l'étude histologique. Le périmètre lisse ne montre aucune altération macroscopique.

Ce fut par les coupes histologiques que nous sommes arrivés au diagnostic de chorio-carcinome. Quels furent les éléments qui nous menèrent a ce résultat? L'éxamen de préparations aux faibles grossissements montre des sérieuses altérations de la structure du myomètre et des hémorrhagies en pleine musculature. La principale altération est la séparation des fibres lisses du muscle utérin par des cellules entièrement étrangères à son histologie normale, des cellules épithéliales de forme très variable, tantôt polyédriques, tantôt cylindriques, quelquefois vacuolées. Comme on le verra dans la figure 5, quelques unes ont un protoplasme abondant qui se colore intensement par l'éosine, d'autres un protoplasme plus réduit et décoloré. Ces cellules se caractérisent principalement par pléomorphisme accentué de leur protoplasme et noyau. Elles s'introduisent entre les fibres lisses et les séparent fortement en provoquant des perturbations nutritives au point de les mener à une dégénération hyaline, comme le montre la Fig. 6d. Ces cellules adhèrent aussi aux vaisseaux et sinus veineux du myomètre, traversent la paroi de l'endomètre et déterminent des hémorrhagies qui innondent de sang de larges zones du myomètre; les cellules tumorales bouchent la lumière des sinus veineux. On costate des formation caryokynétiques en beaucoup de points; à fort grossissement, l'éxamen minutieux permet le diagnostic de karyokynèse multipolaire plus restreinte. Ces formations sont dues à l'hyperplasie atypique des cellules de LANGHANS.

La Fig. 5, microphotographie d'une préparation sous faible grossissement montre dans une zone du myomètre *(a)* de nombreuses cellules de LANGHANS avec leur pléomorphisme spécial, rencontré dans ce genre de tumeurs.

Dans la Fig. 7, dessin d'une zone restreinte d'une coupe colorée à l'hématoxyline-éosine on voit de nombreux aspects de tumeur: *a)* cellules de LANGHANS; *b)* syncytiums: *c)* fibres musculaires lisses séparées par des cellules de LANGHANS; *d)* fibres musculaires lisses en dégénération hyaline.

L'éxamen attentif montre entre les fibres du myomètre de rares syncytiums et ceci semble bizarre, c'est pourtant un fait qui peut-être expliqué, à notre point de vue, par la malignité de la tumeur.

Il faut noter qui ces cellules se disséminent, s'introduisent dans et envahissent le myomètre, et s'approximent beaucoup du périmètre; cependant dans nos coupes, nous n'a avons vu aucune cellule tumorale dans cette portion de la paroi utérine.

Cette description, se rapporte exclusivement aux coupes des parois utérines proprement dites. Il faut rappeler que dans la deuxième pièce de la malade reçue de M. le Dr. CAMILLO BICALHO, l'utérus contenait des hydatides petites, dont quelques unes si adhérentes à la paroi utérines, qu'elles furent comprises dans les coupes de celle-ci. L'éxamen microscopique de ces hydatides montre que leur stroma fibro-musculaire est tout semblable à celui de la môle, à l'exception des éléments épithéliaux. En effet, il y a eu une hyperplasie atypique, désordonnée des cellules de LANGHANS et des syncytiums, principalement des

premières, qui forment des groupes très semblables à ceux décrits dans les parois utérines. Ces grumeaux, ou amas de cellules, se détachent de la surface d'une hydatide et s'introduisent d'une façon désordonnée entre les autres hydatides. Cet aspect est bien représenté dans les Figs. 7 et 8 de l'hydatide a faible grossissement: l'hyperplasie des syncytiums en *a* et des cellules de LANGHANS en *b*). Ainsi décrit et diagnostique notre cas particulier, revenons à la définition plus exacte du chorio-carcinome.

Le chorio-carcinome est un blastome déterminé par l'hyperplasie atypique des cellules épithéliales des villosités choriales, qui se développe dans l'organisme maternel.

A cette définition, nous ajoutons «*qui se développe dans l'organisme maternel*» afin d'écarter à dessein les formations dérivées des villosités choriales chez l'homme. Nous n'en parlerons pas puisqu'elles sont congénitales, devant pourtant être rangées entre les tératomes. En s'occupant de la structure histologique des tumeurs, il faut savoir lequel des éléments épithéliaux prédomine dans la formation des rio-carcinômes, les cellules de LANGHANS ou les syncytiums. Dans notre cas les cellules de LANGHANS l'emportaient de beaucoup sur les syncytiums. Et c'est d'alleurs ce qu'on trouve dans les autres cas décrits, avec de legères variations, qui n'affectent pas la grande supériorité numérique des cellules de LANGHANS. D'un autre côté il est connu que même au cours d'une gestation normale, les syncytiums peuvent abandoner la surface de la villosité et pénétrer dans la muqueuse, allant même jusqu'à la paroi utérine; quand ces masses cellulaires envahissent en grand nombre la muqueuse, elles produisent la soi-disante métrite syncytiale, mais cette migration des syncytiums n'occasionne nullement des tumeurs, ni dans l'un ni dans l'autre cas.

Les amas cellulaires peuvent atteindre les poumons et le foie. Dernièrement SCHMORL a même voulu expliquer l'éclampsie comme syndrôme toxique déterminée par la présence des syncytiums dans le foie. On rencontre ces cellules en effet dans les autopsies de cas d'éclampsie sans qu'on puisse pourtant établir avec assurance une relation de cause et d'effet entre les syncytiums et ce syndrome.

Au contraire de ce qu'on constate avec les syncytiums dans la plupart des cas, il y a toujours formation de tumeurs quand les cellules de LANGHANS abandonnent les villosités pour envahir le parenchyme.

Le chorio-carcinôme n'est pas toujours précédé de môle; à ce sujet la meilleure statistique est celle de BRIQUEL publiée dans Surgery, Gynecology and Obstetrics: de 112 cas étudiés par ce gynécologiste 21 suivirent des naissances à terme (18,4 %), 34 furent consécutifs à des avortements (30,3 %), 54 à une môle (48,1 %) et trois furent précédés de grossesse tubaire (2,6 %).

On est même arrivé à confondre, dernièrement, le chorio-carcinôme avec la môle hydatiforme. Cette confusion n'est pas justifiée, puisque ce sont deux tumeurs de structure différentes. Le chorio-carcinome est très souvent précédé de môle; cette dernière peut donner lieu au chorio-carcinome., mais ce n'est pas un motif pour les confondre. Très souvent chez la femme, des fibro-adénomes de la mamelle donnent lieu à la formation d'un carcinome et cependant ce sont deux tumeurs différentes par leur anatomie microscopique, leur structure et leur évolution, quoique les cellules qui les constituent soient identiques. Eh bien, entre le chorio-carcinome et la môle il y a la même différence et en plus, une constitution histologique diverse, puisque le chorio-carcinome est formé à peine de cellules épithéliales

et la môle résulte de l'hyperplasie de l'épithélium et du tissu conjonctif.

D'ailleurs nous avons déjà vu qu'on peut trouver une môle sans chorio-épithéliôme et vice-versa.

Voyons en résumé quelles sont les différences entre la môle et les chorio-carcinomes:

La môle:

1°. Est une tumeur structuralement mixte composée de tissu épithélial et de tissu conjonctif.

2° Elle est une tumeur bénigne, qui ne produit que rarement des métastases.

Le chorio-carcinome:

1°. Est une tumeur éxclusivement épithéliale.

2°. Est une tumeur maligne qui se complique généralement de métastases graves.

Dans la tumeur môle, la villosité choriale donne naissance par hyperplasie typique, régulière, à de nombreuses hydatides, tout à fait semblables à la villosité, tandis que dans la tumeur chorio-carcinome seules les couches cellulaires épithéliales abandonnent leur place et présentent une hyperplasie atypique désordonnée, envahissant les vaisseaux et le parenchyme et ne produisant pas de villosités.

On a prétendu que ce n'était pas possible de faire le diagnostic microscopique différentiel entre la môle, le chorio-carcinome et le chorion normal, Cependant suivant WILLIAM MEYER il est presque toujours possible de le faire entre la vésicule choriale et l'hydatide de môle.

En étudiant une métastase vaginale de chorio-épithéliome, PICK et SCHLAGENHAUFER sont arrivés a la conclusion qu'il y a deux modalités de ces tumeurs et GRAVES dans son livre «Gynecology» écrit à ce sujet: «When the fact became known that the disease might be either benign or malignant, every effort was made by pathologists to discover some distinguishing histological mark by which the two forms might be differentiated. These efforts have been unsuccessful. MARCHAND, ASCHOFF, KISSEL and VON FRANQUE' ALBRECHT, HORTMANN, and others agree that we have absolutely no histologic criterium for determining the malignancy of these tumours».

Malgré l'opinion de ces grandes autorités, nous nous permettons d'objecter notre répugnance à la division des chorio-épithéliomes en bénins et malins. L'épithéliome «bénin» cause un véritable désordre dans les notions que les histologistes modernes ont cherché a systématiser avec tant de soin, en se basant sur des faits acquis.

Voyons ce qu'on peut comprendre par chorio-carcinome bénin et malin. Admettre qu'une tumeur diagnostiquée histologiquement comme un chorio-carcinôme, comme nous l'avons fait et défini antérieurement, peut avoir deux modalités, une bénigne et l'autre maligne semble bien risqué pour le malade et en entier désaccord avec ce qu'on connait aujourd'hui au sujet du carcinôme. Aussi l'épithéliome et le carcinome sont toujours des tumeurs malignes. Nous sommes donc d'avis, que lorsqu'on dit dans la plus part des livres modernes que c'est impossible de faire un diagnostic histologique entre le chorio-épithéliôme bénin et malin, que les auteurs veulent signaler la difficulté ou même l'impossibilité de savoir par l'éxamen histologique des hydatides, si la môle sera compliquée de chorio-carcinôme. Il s'agit alors d'un confusion entre môle et chorio-carcinôme que nous avons déjà essayé de faire disparaître. Quant à la difficulté de ce diagnostic nous sommes complètement d'accord avec les auteurs.

On lit encore fréquemment que, dans les cas spéciaux d'avortement ou môle ou le matériel de râclure utérine est remis par le praticien a l'anatomo-pathologiste pour savoir s'ily a une possi-

bilité de complications par chorio-carcinôme, celui-ci ne peut donner une opinion decisive, d'où la conclusion de l'identité histologique de môle, chorio-épithéliome et chorion normal, par absence de diagnostic différentiel.

La première partie de cette affirmation est vraie. Sauf en des cas très spéciaux, on ne peut faire le diagnostic entre la môle, le chorion normal et le chorio-épithéliôme, avec le matériel de râclure de l'utérus. Ceci n'est cependant pas dû a l'identité des tissus, mais a l'insuffisance du matériel cueilli par ce procès ou à des altérations de structure. On ne peut pas étudier la structure, l'organisation, l'architecture cellulaire, les rapports des cellules entre elles, indispensables pour savoir en chaque cas si ces cellules constituent une des trois formation citées. Ce qu'on peut reconnaître avec sureté dans le matériel cueuilli par ce procédé sont les cellules des LANGHANS: mais celles-ci sont trouvées indifféramment dans la môle, le chorion normal et le chorio-épithéliôme. Pour distinguer dans un cas particulier si elles constituent une de ces formations, il faut donc éxaminer les rapports qu'elles gardent entre elles et avec le tissus voisins. C'est précisément cet élément que le matériel râclé ne peut pas fournir à l'anatomo-pathologiste. La plupart des cellules de LANGHANS d'un chorio-carcinôme sont tout-à-fait identiques aux cellules de LANGHANS de la môle ou du chorion normal, de même façon que la plupart des cellules d'un adéno-carcinome sont identiques aux cellules épithéliales d'un adénome ou à celles des glandes aux dépens desquelles se forment ces deux genres de tumeurs.

Ces faits, loin de soustraire la môle ou le chorio-carcinome aux règles générales aujourd'hui acceptées dans la classification des tumeurs, montrent au contraire qu'elles obéissent à ces règles.

Actuellement on cherche de moins en moins à faire le diagnostic différentiel des tumeurs par la cellule tumorale, c.-à-d. par l'unité histologique de la formation, et l'on cherche de plus en plus à établir les lois qui régissent les rapports des cellules entre elles dans les tumeurs et dans les tissus normaux. Dans la plupart des cas la cellule tumorale est identique à la cellule normale.

Ce qui arrive avec les tumeurs placentaires est ce qui arrive avec les autres tumeurs. En effet, si on envoie à l'anatomo-pathologiste un acinus glandulaire ou quelques cellules d'une formation pour qu'il émette son opinion afin de savoir si c'est une tumeur, il demandera qu'on lui envoie plus de matériel pour étudier les relations entre les cellules et les acinus entre eux et avec les tissus voisins. C'est ce qui arrive dans les tumeurs en question. Si au lieu d'envoyer du matériel de râclure on envoie un bon fragment de tissu obtenu par biopsie de l'utérus, l'anatomo-pathologiste pourra dire avec sureté s'il s'agit de môle, de chorio-carcinôme ou de chorion normal.

Ceci exposé, nous voulons montrer, d'accord avec les données anatomo-pathologiques et cliniques, comment doit procéder le gynécologiste pour avoir une plus grande probabilités d'atteindre au but, en présence d'un cas de môle hydatiforme. Voyons les deux aspects les plus communs sous lesquels se présentent les cas:

Une femme, qui se croit enceinte a des hémorrhagies assez abondantes et fréquentes ou bien le médecin lui administre des médicaments et pendant ce temps elle expulse spontanément une môle, ou alors il se décide à vider l'utérus et il trouve la môle.

Il nous parait que la première chose à faire est de savoir l'âge de la malade;

si elle est âgée d'environ 44 ans ou davantage et si elle ne s'oppose pas à l'extirpation de l'utérus, ce que le mèdecin peut faire de mieux c'est de lui proposer l'extirpation totale de cet organe. Quand la malade montre des symptômes de métastases, avant de chercher à connaitre son âge, il convient de faire, l'hystérectomie de suite sans chercher a savoir s'il y a chorio-épithéliome bénin ou malin et si la môle produit ou non des métastases, considérations qui pourraient être périlleusses pour la vie de la malade.

Cependant si l'on ne constate pas de métastases, ni de symptômes généraux graves (albuminurie, anémie profonde, vomissements etc.) ni d'hémorrhagies abondantes et si la malade est agée de 18—40 ans, il est déjà plus malaisé de choisir la thérapeutique la plus avantajeuse, d'autant plus que dans la Kiel-Klinik de 20 cas de môle deux seulement se compliquèrent de chorio-carcinome. KEHRER accompagna l'histoire de 50 cas et aucun ne s'est compliqué de chorio-carcinome; SENARCLENS, cité par POLDOSSON et VIOLET, observa 42 cas de môle dont 3 seulement furent suivis de chorio-carcinome, etc.

On voit qu'il est possible de conserver l'utérus entier après la môle et les observations de môle suivie de naissances normales, à terme sont communes. Dans ces cas on doit remettre a l'anatomo-pathologiste le matériel extirpé ou expulsé spontanément. Quand le chirurgien fait le curettage on doit chercher a examiner, de preférence histologiquement, les tissus détachés de la paroi utérine. Si dans le matériel râclé on obtient un fragment qui correspondrait a celui obtenu par une biopsie, le diagnostic devient naturellement plus facile; mais ceci doit arriver bien rarement, parce qu'en général, le chirurgien en connaissance de cause ménage l'utérus qui présente une môle. Mais, même dans les hydatides, surtout les plus petites, il faut étudier soigneusement les couches de cellules épithéliales et si l'anatomo-pathologiste trouve les syncytiums et surtout les cellules de LANGHANS exagérément hyperplasiés autour d'une villosité, quelquefois abondonnant la villosité pour former des ilôts épars de cellules épithéliales sans que celles-ci gardent leurs rapports normaux (quelque chose de semblable a ce qu'on voit dans la Fig. 8), nous croyons qu'il a le droit, sinon de faire le diagnostic de chorio-carcinome, au moins de conseiller la pan-hystérectomie.

Ainsi le mèdecin accoucheur ne peut attendre du laboratoire, sinon deux réponses:

1) Qu'on fasse l'hystérectomie, 2) on ne peut savoir par l'éxamen du matériel, s'il y a ou non des probabilités de complication de la môle par chorio-carcinôme. Malheureusement, la dernière réponse est la plus fréquente et le chirurgien ne peut s'appuyer que sur les symptômes cliniques.

Pour résoudre ce dernier cas, du reste le plus commun, nous transcrivons ici le critérium, adopté par VINEBERG, exposé dans son article «Clinical Data on Chorio-epithelioma with end-results of operative treatment». Dans ce travail il étudie 8 cas de môle suivis de chorio-carcinôme et le matériel anatomo-pathologique est très bien décrit par MANDLEBAUM, anatomo-pathologiste du Mt. Sinai-Hospital.

VINEBERG conseille, à faire une colpotomie, suivie d'hystérectomie antérieure; De cette façon on retire toute la môle de la cavité utérine et en même temps on examine la cavité pour vérifier s'il y a quelque signe de chorio-carcinôme. Voyons la description résumée d'un de ses cas pour que les chirurgiens puissent mieux juger du procès.

«Une malade, âgée de 26 ans, avait avorté six semaines avant l'examen; au moment de l'avortement elle avait

été curettée. Quelques jours après elle avait continué à avoir des hemorrhagies de façon qu'on fit un nouveau curettage, en envoyant à l'examen le matériel obtenu. L'anatomo-pathologiste répondit qu'il s'agissait d'un cas suspect de chorio-épithéliôme, sans l'affirmer, puisque dans le matériel éxaminé il n'y avait pas de myomètre. Cependant la malade continuait a saigner de façon qu'elle consulta VINEBERG. En vue de son âge, le cirurgien pratiqua l'hystérotomie et vida l'utérus; comme il ne constata pas de signe macroscopique de chorio-épithéliôme il sutura la plaie. La malade, observée trois mois plus tard, était en très bon état de santé et avait eu ses règles normalement.»

HITSCHMANN et CRISTOFOLETTI concordent avec le procédé de VINEBERG, en préferant cependant la voie abdominale pour l'hystérotomie, pour des motifs qu'il ne nous importe pas de rapporter ici.

Si le procédé de VINEBERG est acceptable et nous ne voulons pas éxprimer une opinion à ce sujet, ne pourrait-on, demandons-nous, au moment de l'hystérotomie, faire une biopsie de la paroi utérine? L'anatomo-pathologiste aurait-alors du matériel dans de meilleures conditions pour répondre avec assurance s'il s'agit de chorio-carcinôme.

Cependant, VINEBERG n'a pas toujours recours à l'hystérotomie pour le traitement de la môle. Dans les huit derniers cas de môle décrits dans l'article cité il fit systématiquement le râclage utérin et si la malade saignait encore après cette intervention il pretiquait alors l'hystérectomie. Dans tous les cas il y avait un intervalle de temps entre les deux interventions, pendant lesquels les malades se portaient bien; mais toutes ont eu des nouvelles hémorrhagies et il a fallu pratiquer la pan-hystérectomie. Toutes ces malades ont été guéries. Il semble que puisque le râclage ne guérit aucune de ses malades, VINEBERG devrait maintenant conseiller la pan-hystérectomie dans les cas de môle. Cela n'arrive pourtant pas probablement parce qu'il tient compte du pourcentage relativement élévé des cas de môle dans littérature qui ne se sont pas compliqués de chorio-carcinôme.

Dans le cours de ces rapides considérations nous répétons l'expression chorio-carcinôme pour designer ces tumeurs, sans justifier ce choix, qui nous parait le plus légitime.

Chorio indique la localisation de la néo-formation et carcinome exprime approximativement son origine et son évolution: ce sont par conséquent deux mots bien expréssifs. Carcinome est aujourd'hui la rubrique sous laquelle on désigne tous les tumeurs épithéliales malignes. Les carcinômes se divisent en épithéliômes, tumeurs des cellules épithéliales plates et carcinomes proprement dits, de cellules épithéliales hautes. Conséquemment il parait entièrement justifié et indiqué d'employer l'éxpression carcinome pour spécifier des tumeurs formées aux dépens des cellules épithéliales des villosités choriales. Même si l'on ne veut pas considérer ces cellules comme étant un épithélium haut, on devra néanmoins dénominer ces nouvelles formations des carcinômes, puisque, comme nous venons de le dire, c'est le terme générique pour toutes les tumeurs malignes épithéliales. L'éxpression épithéliome ne comprend que les tumeurs formées aux dépens de l'épithélium pavimeteux plat, ce qui n'est pas le cas de l'épithélium chorial.

Voyons les termes moins usités dont se sont servis les auteurs pour désigner le chorio-carcinome.

SAENGER (1888) introduisit l'éxpression *déciduome*. Cet auteur croyait, en effet, que le chorio-carcinome résultait de l'hyperplasie des cellules déciduales du placenta. Mais ces cellules sont de nature conjonctive et ce nom a été mis de côté pour n'être employé que

dans les rares cas de néoplasme des cellules déciduales du placenta maternel, tandis que le chorio-carcinome se forme aux dépens des cellules épithéliales du placenta fœtal. Trophoblastome est une expression plus restreinte que la précédente, puisqu'elle ne comprend que les tumeurs des trophoblastes (syncytiums et cellules de LANGHANS). Elle n'indiquent cependant ni la forme des unités histologiques ni l'évolution probable du néoplasme. Le terme syncytiome n'est pas seulement très restreint mais suppose aussi une notion inéxacte, la formation de la tumeur par les syncytiums, quand ce sont les cellules de LANGHANS qui prédominent. Finalement chorio-épithéliome malin de MARCHAND, dont nous avons montré les défaits.

L'expression chorio-carcinome semble avoir été employé pour la première fois par EWING dans son traité «Neoplastic Diseases», sans justifier la préférence accordée à ce nom et voulant à peine spécifier ce qu'il appelle chorioadénome.

Voilà motifs qui nous paraissaient justifier notre choix. Ce n'est pas notre intention de soulever, avec cette justification, une question byzantine de terminologie, mais simplement d'arriver à adopter une dénomination qui contienne les caractères de la tumeur, suivant les idées modernes au sujet de la classification des blastomes, ce qui est indispensable pour une bonne et complète interprétation clinique des indications anatomo-pathologiques.

En terminant les considérations au sujet de l'observation que nous présentons, nous désirions mentionner, quoique de passage les métastases et la malignité des chorio-cascinômes.

On sait, en effet, que les chorio-carcinomes se compliquent de métastases à distance, ce quin'est pas étonnant puisque ce sont des carcinomes. Ces métastases se produisent dans le foie, les reins, la rate, le cœur (BUSSE) et même dans le cerveau (KREWER); mais surtout dans le poumon et le vagin.

Les métastases suivent la voie veineuse et non la voie lymphatique comme dans les autres carcinomes. Les cellules du chorio-carcinome ont la propriété spéciale de détruire la paroi des veines et de pénétrer jusqu'à la lumière du vaisseau; de la il se détachent des cellules qui font facilement le chemin, à travers le système veineux, jusqu'au cœur droit: par la petite circulation ils atteignent ensuite les poumons ou ils sont retenus par le tamis que forment les capillaires. C'est alors que se développe la métastase. Pour arriver au vagin les cellules prennent le chemin rétrograde de la veine vaginale.

Les métastases se constituent et croissent très rapidement, ce qui n'arrive dans n'importe quelle autre tumeur maligne. Elles sont une sérieuse menace à la vie du porteur, qui peut mourrir en quelques jours si on ne se sert d'une thérapeutique énergique pour les combattre. Des hémoptyses graves des cas de métastases pulmonaires sont bien connus.

Ce sont par conséquent les métastases tumorales les plus graves qu'on connaisse par rapport à la précipitation avec laquelle elle se forment et parce qu'en peu de jours elles peuvent amener les malades à l'imminence de la mort.

Dans les autres métastases, la gravité des métastases est dûe surtout à leur localisation et aux perturbations méchaniques qui en résultent. De plus elles forment une autre tumeur, qui en s'ajoutant a la première mènent le malade plus vite à la cachexie.

Jusqu'ici, et avant que nous eussions parlé au sujet des métastases, nous sommes parvenus à maintenir une analogie presque complète entre le chorio-carcinome et les autres tumeurs. Mais dorénavant, dans l'étude de son évolution, des différences les séparent nettement, quoique la structure présente plus ou

moins le même aspect. Même avant l'apparition des métastases, les symptômes en sont provoqués par le chorio-carcinome lui même.

Ces métastases malgré qu'elles soivent plus graves que n'importe quels autres par leur évolution rapide et les symptômes généraux qui les accompagnent, sont aussi celles qui disparaissent le plus facilement.

En effet, on a observé maintes fois après l'hystérectomie chez un cas de chorio-carcinome avec métastases que celles-ci disparaissent complèment. Ce fait a été confirmé par ROCKAFELLOW, VON FLEICHMANN, NEUMANN, KELLY, TEACHER, RIESEL, EDEN, LOCKYER et même MARCHAND. Le cas plus intéréssant est celui de HITSCHAMANN et CRISTOFOLETTI, dans lesquels les métastases du chorio-carcinôme avaient envahi une grande partie du vagin, de la vessie et de la paroi pelvienne. Après pan-hystérectomie il y eut une regression totale des métastases avec réconstruction *ad integrum* des tissus atteints. La malade fut observé pendant sept ans sans qu'on put observer le moindre signal de tumeur. Le chorio-cascinome diffère donc, quant à son évolution, des carcinomes en général. Dans ces derniers la présence des métastases accentue la malignité de la tumeur, rend le prognostic plus sombre et établit contre-indication de l'intervention cirurgicale. Dans les chorio-carcinômes la présence de métastases est toujours une indication en faveur de la pan-hystérectomie immédiate.

Comme nous l'avons déjà dit, les chorio-carcinomes forment des métastases par voie veineuse, malgré qu'ils soient des tumeurs épithéliales. Dans le cas de M. le Dr. CAMILLO BICALHO il est intéréssant que la régréssion des métastases (dont l'existence etait évidente au point de vue clinique) eût lieu après la râclure. Ceci semble démontrer qu'il n'est pas nécessaire d'enlever toute la tumeur; il est suffisant de débarasser l'organisme d'une grande partie pour que les métastases disparaissent, au moins en partie. L'étude de la forme particulière, de la malignité et de la façon de se conduire des métastases, des chorio-carcinomes a permis d'établir certaines conclusions pour la clinique gynécologique.

D'accord avec les meilleurs auteurs, on peut donner comme définitives les suivantes:

1°. La présence de métastases indique pan-hystérectomie immédiate, sans intervention sur les dites métastases;

2°. Chaque fois qu'après un cas de môle, soit à un interval de quelques jours soit des quelques mois, la malade a des hémorrhagies, il faut pratiquer la pan-hystérectomie;

3°. On ne doit pas employer le WERTHEIM parce que les métastases ne se produisent pas par voie lymphatique.

Tandis que les métastases du chorio-carcinome chez la femme ont une régression facile après extirpation de la tumeur primitive, les métastases du chorio-carcinome chez l'homme (tératomes choriaux) dans les mêmes conditions, ne montrent pas la moindre inclinaison à suivre cette marche.

Ces dernières se conduisent comme les autres métastases des carcinomes en géneral et se développent d'une manière autonome sans dépendre nullement de la tumeur primitive. En effet EWALD FRITZE étudie dans son travail «Beitrâge zur Kentniss der Chorionepitheliome bei Männern, Zeitschrift für Krebsforschung» 34 chorio-carcinomes chez l'homme et montre l'insuccès des interventions et l'indépendance de développement des métastases. Ces différences d'évolution des métastases chez l'homme et chez la femme attirent l'attention parce que jusqu'à un certain point elles semblent paradoxale.

D'un autre côté il faut voir que le

chorio-carcinome maternel est la seule tumeur formée aux dépens des cellules qui n'appartiennent proprement pas au porteur de la néo-formation. En effet le chorion fait partie du placenta fœtal. Les cellules du chorion qui constituent la tumeur appartiennent donc au nouvel organisme. En face de cette considération on arrive toute de suite à dire que le nouvel organisme est toute-fait identique à l'organisme maternel, puisque c'est aux dépens de celui-ci qu'il se forme. La cellule maternelle, l'ovule après la fécondation, se transforme en œuf, et subit des modifications radicales statiques et dynamiques. A première vue on dirait que les modifications doivent être très légeres puisque l'embryon se nourrit aux dépens de l'organisme. Mais quand on reflêchit sur la influence de l'hérédité paternelle il faut avouer que l'embryon est un nouvel individu de la même espèce mais de constitution déjà différente.

Ainsi dans le chorio-carcinome de la femme il y aurait introduction de cellules étrangères dans l'organisme. Si ces cellules ne sont pas totalement diverses, elle le sont suffisamment étant donnée la spécificité cellulaire pour déterminer la formation d'anticorps ferments dans l'organisme. Et ce fait nous donnerait une explication facile de la régression des métastases des chorio-carcinomes chez la feme. Il ne manque pas d'interprétations logiques pour expliquer pourquoi les métastases ne sont desintégrées par les ferments qu'après extirpation de la tumeur primitive. Mais il vaut mieux ne pas continuer à engendrer des hypothèses qui ne constituent pas des éléments de démonstration pour les faits biologiques. Les hypothèses logiques en biologie ne doivent servir qu'a démontrer les expériences qui les justifient.

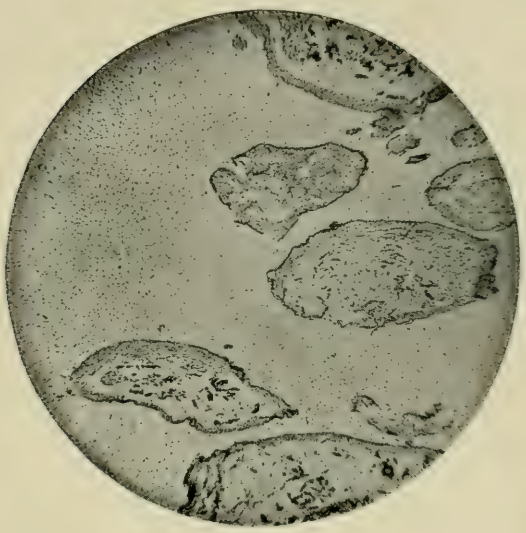
Une fois démontré que les cellules choriales qui constituent les chorio-carcinomes introduites dans l'organisme maternel déterminent la formation de ferments on comprendra facilement pourquoi les métastases de ces tumeurs épithéliales malignes ne parviennent pas à se développer, quoique jouissant des mêmes propriétés que les autres tumeurs de ce genre. Et puisque chez l'homme les cellules du chorio-carcinome appartiennent au porteur lui même il n'y a pas de formation d'anticorps et portant persistance des métastases et développement en dépit de l'extirpation de la tumeur primitive.

Rio, le 25 Juillet 1921.

Alvares Penna.

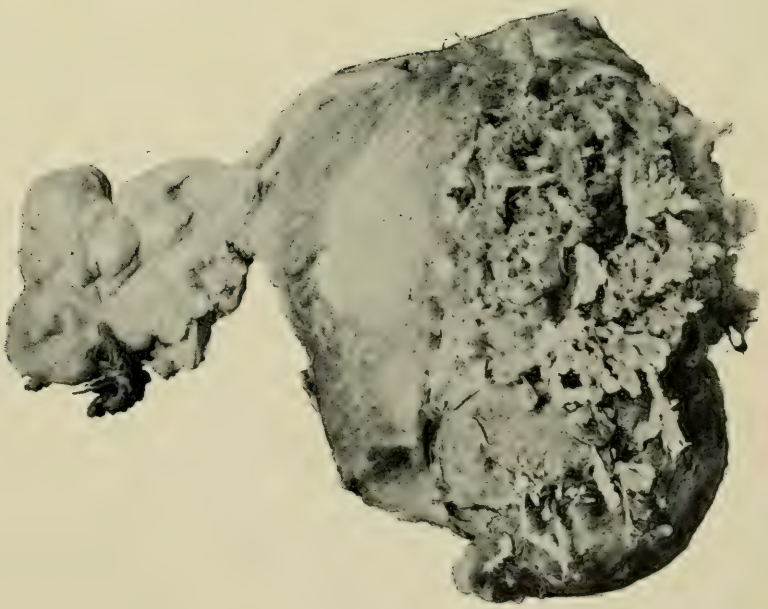
1

J. PINTO - PHOTO



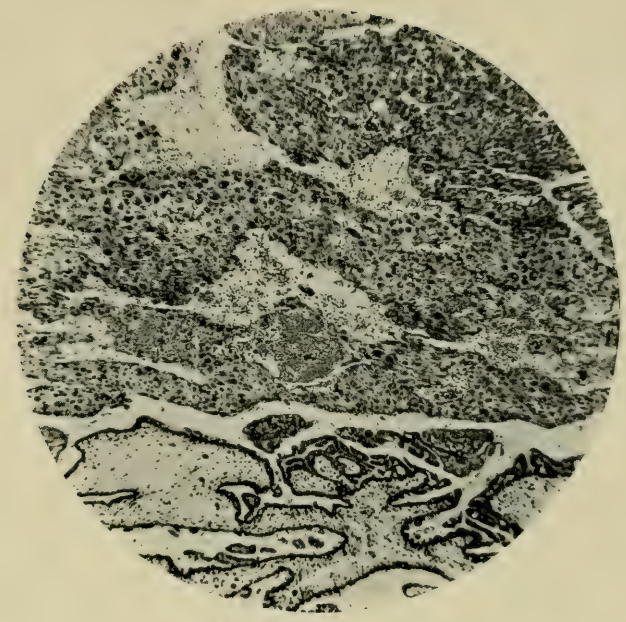
2

4

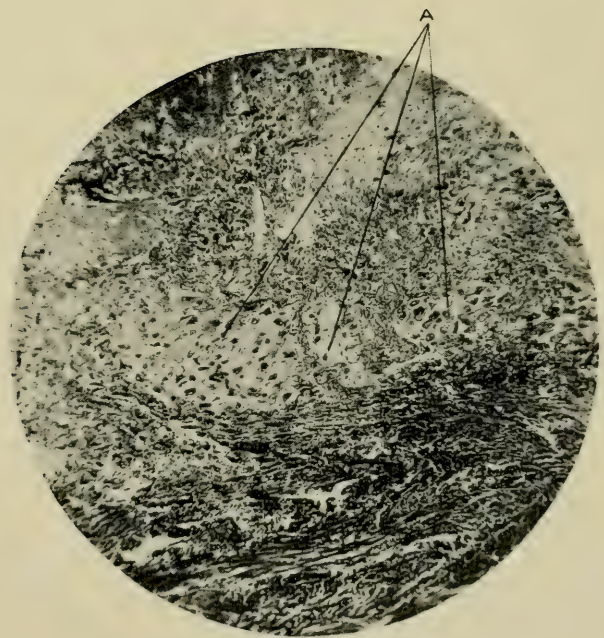


3

J. PINTO - PHOTO

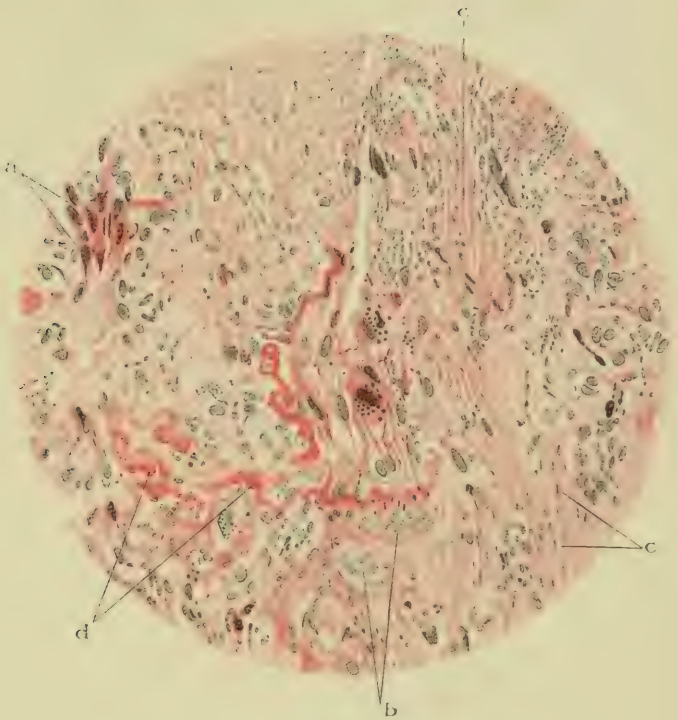


5

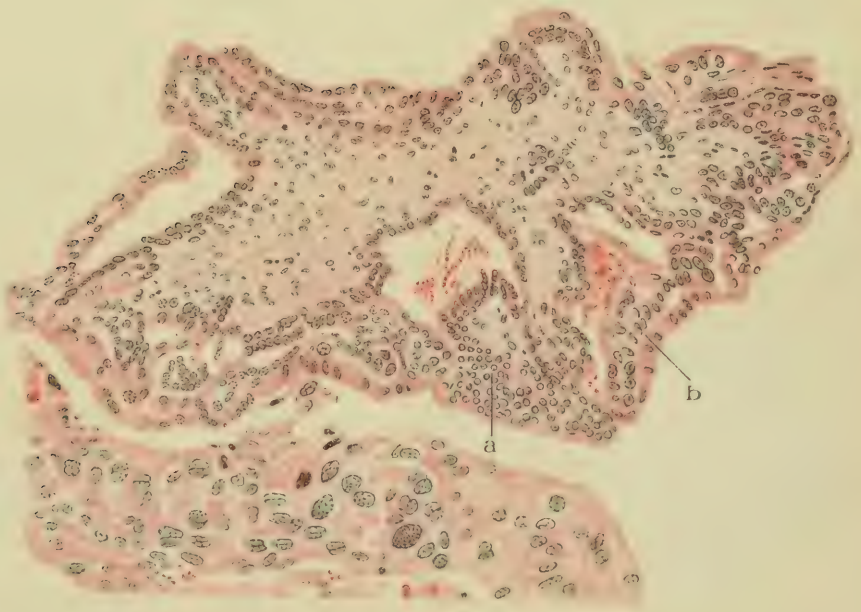


6

J. PINTO - PHOTO



7



Castro Silva. del.

On the histopathologic lesions of the bone-marrow in immunisation for agglutinin production

by

Dr. C. MAGARINOS TORRES.

I—Introduction and History.

II—Subjects and methods of research.

III—Histopathology of the bone-marrow.

IV—Conclusions.

(With plates 17—22.)

The research work carried out during the last few years tends to indicate the blood forming organs, bone-marrow, spleen, and lymphatic glands, as the seat of production of antibodies.

Applications of X rays, benzol, thorium X, *etc.*, produce lesions in the blood-forming organs of animals undergoing immunisation and modify the graphics relating to the production of various antibodies.

On the other hand the concentration of antibodies in the serum is considerably increased by substances that stimulate the blood-forming organs, such as arsacetin and salvarsan, independently of a new injection of antigen. Fragments of spleen and bone-marrow cultivated outside the body, are also able to produce antibodies. Each of these organs produces certain kinds of antibodies; thus the agglutinins are produced chiefly by the bone-marrow, which is not however the hemolysin-producing organ.

It is as yet impossible to ascertain the function of the liver and ductless glands in the production of antibodies, as research work on the subject has yielded such contractory results. It seems likely that the ductless glands (specially the thyroid and the parathyroid) do not actually produce antibodies

but merely influence and control the concentration of these antibodies in the serum.

Most of the litterature furnishes scant information on histopathologic lesions of the blood-forming organs, dealing merely with the physiologic side of the question, the subject considered being the antibody producing capacity of the bone-marrow.

The complexity of the origin of antibodies amply justifies an interest in histopathologic research which may furnish a solid basis for discussion.

There is an abundant literature on the subject of immunity but almost none of it deals with this side of the question.

GUERRINI (1903) immunised rats with broth cultures of *Bacillus murisepticus* and found histological lesions in lungs, heart, kidneys and nervous system, a few hours after the injection of the immunising substances. There was nothing characteristic about these, they were quite similar to the ones produced in all intoxications; the lesions of the adrenals, liver, spleen and bone-marrow, however, showed other alterations besides; in adrenals and liver nuclear turgescence and chromatin-disaggregation; in spleen and bone-marrow: numerous macrocytes with polymorphic nuclei.

GAY and RUSK (1913) immunised rabbits by repeated intra-venous injections of washed guinea-pig corpuscles and inoculated again fresh washed corpuscles after an interval of two or more weeks. They made a careful histopathological examination of subjects killed successively, 1,4 and 24 hours, 4 and 6 days after inoculation and attempted to show evidences of functional activity of certain cells which might be supposed to have formed the antibodies. The only alteration found was the striking increase of glycogen in the liver of the subject killed 24 hours after injection. They themselves are doubtful as to the interpretation which should be given to this.

METALNIKOW and GASCHEN (1922) studied in Intertebrates, (Larvæ of *Galeria*), the processes of immunity principally the changes in the blood. At first there is a reaction of the various leucocytes and phagocytes and after that a phagocytic reaction; in the third place a leucolysis and phagolysis with the freeing of intracellular ferments and antibodies. Shortly afterwards there is a reaction of the spherular cells, which seem to play an important part in immunity. Finally there is a formation of giant-cells and of capsules. The above-mentioned authors think that immunity is the result of a very complex reaction of the cells of the organism and that these reactions are specific for each microbe injected.

SESTINI (1922) observed a thyroid hyperfunction in immunised guinea-pigs *(B. typhi)* which takes the form not only of increase of lipoids and fuchsinophile granules and modification of colloid substances but also of changes in the cells of the vesicles and intravesicular thyroid epithelium, which correspond really to a state of telangectoid hyperplastic struma.

The publications of FOÁ (1889), DOMINICI (1900), LENGEMANN (1901), MUIR (1901) LONGCOPE (1915), EVANS (1916), etc. on the alterations in these organs in different infections and the production of leucocytes in leucocytosis furnish indirect information on the histopathologic lesions in immunitity.

History.

The hypothesis on the origin of antibodies, deduced from the leading opinion of different research-workers can be thus expressed:

1°) All the cells in the body take part in the formation of antibodies; the cellular protoplasma is the seat of the production of antibodies; as an immediate consequence we have the opinion that many tissues can produce antibodies locally.

The primary hypothesis of EHRLICH, according to which all the cells in the body would take a part in the formation of antibodies, is sufficiently known. The local production of antibodies was put up by the first research-workers (ROEMER, VON DUNGERN, WASSERMANNANN and CITRON). Subsequent research cast doubts on this opinion and indicated that the contrary was the case. HEKTOEN (1911) carried out experiments, the result of which do not favour the local production of specific antibodies, in dogs injected with rat and goat corpuscules, at any rate in the tissue of the pleura, the cellular subcutaneous tissue and that to be found in the anterior chamber of the eyeball. Injection of red corpuscles of rat or goat in the anterior chamber of the eyeball in dogs is followed by the appearance of specific antibodies ind the blood an frequently in the aqueous humor. Antibody concentration is greater in the aqueous humor of the injected eye but is decidedly less in both eyes than in the blood; antibodies do not appear first in the aqueous humor but in blood. Injection of rabbit or goat corpuscles in the pleural cavity of dogs is followed by the appearance of specific antibodies in the blood and in the pleural exudates, having been produced by the injection of aleuronate. The concentration in the pleural exudates is not greater than in the blood

and often is less, the concentration in the blood being in this case slightly lesser than after intravenous injection of the same quantity of antigen. There is no difference in the proportion between the richness in antigen of the blood and the pleural exsudates in dogs, injected with antigen in .he pleural cavity, and dogs, injected intravenously. Dogs inoculated subcutaneously with blood corpuscles of goat or rat on the fore leg, do not show a lesser production of antibodies than others on amputation during first phases of antibody-production.

Besides, if antibodies were produced locally at the site of injection of antigen in subcutaneous cellular tissue, it would be reasonable to expect subcutaneous injection of antigen in many places to increase the production of antibodies, which has not been found to be the case.

ZINSSER (1918) seems to be inclined to admit that the formation of antibodies is not the functionof special organs but that many of the cells of the body are able to take part in the process; this opinion is founded principally upon the experiments on local immunisation of WASSERMANN, CITRON, and ROEMER, which, as has been seen, were aftewards contested.

Of late OSHIKAWA (1921) managed to graft the skin of actively immunised rabbits on normal rabbits and to ascertain the formation of antibodies in the latter. His protocols, however indicate this antibody-formation to be very small, thus in two cases the titre of the agglutinating serum of the rabbits, on which the grafting was carried out, did not exceed 1/10, although in one case the titre of the rabbit that furnished the skin fragments was equal to 1:640 (Immunised with *B. paratyphi B);* in other experiments the serum of the rabbit, on which the skin fragments were grafted, attained the titre of 1:160 at the end of 9 days (mmunisation with *B. proteus).* We find the concentration of agglutinin in the serum of the rabbits on which the grafting was carried out very slight to permit cathegoric conclusions; it must be remembered that the blood forming organs of the rabbit, specially the bone-marrow, are very sensitive to pathologic lesions; it would be quite plausible to suppose that the grafting of the skin alone had influenced the antibody contents of the blood; the operation might have had a similar influence to the injection of peptone or of an irritating substance into the bone-marrow.

2°) The antibodies are produced specially by some of the cells of the organism, principally the leucocytes of the blood.

METCHNIKOFF (1897) had the idea that the bacterioid substances of the serum might be produced by the leucocytes.

BORDET (1895), following this theory, ascertained that the serum had a greater preventive value than the plasm (which contains few leucocytes) and concluded that the leucocytes play an important part in the production of protective substances.

GRUEBER (1897) suggested that the polymorphonuclear leucocytes form the agglutinin. This was found to be a mistake by the experiments of ACHARD and BENSAUDE, WIDAL and SICARD, PATSCH and KRAUS and SCHIFFMANN.

In the case of antitoxins, it was thought that the cells specially attacked by the toxin were the the ones that produced the antibody; an instance of this are the ideas of WASSERMANN and TAKAKI on the formation of tetanus antitoxin by the nervous cells. This was immediately found to be erroneus by METCHNIKOFF and MARIE.

V. DUNGERN (1902) finds that the blood-cells take part in the formation of precipitins.

KRAUS and LEVADITI (1904), dosing precipitins in the organs of immunised animals, found that, of all the organs studied, only the epiploon formed highly-precipitating extracts; as the epiploon harbours an accumulation of leucocytes, they concluded that these were chiefly responsible for the antibodies,

KRAUS and SCHIFFMANN (1906) found that rabbits having undergone splenectomy produce precipitating sera, as well as normal ones; they think that precipitins are not formed in the organs but in the vascular system, since, with the exception of the epiploon, no organ possesses precipitins before the serum.

The same authors (1906) ascertained that agglutinins can appear in considerable proportions in the serum without existing at the same time in the extracts of organs; when found in them, it is perceptibly less concentrated than in the blood; the bone marrow has a greater quantity of agglutinins than the spleen and lymphatic glands.

STENSTRÖM (1911), inoculating polymorphonuclear leucocytes together with the antigen *(B. typhi)*, observed a decrease in the formation of agglutinins; in consideration of this he is of the opinion that the leucocytes either produce agglutinins or contribute indirectly to their production.

FONSECA (1912) thinks that the leucocytes play the most important part in the formation of antibodies; his hypothesis is based on the fact that "organs attacked by infections that confer immunity in a greater or lesser degree, generally show, on specific counting, an increased number of lymphocytes".

BACHMANN (1918-1919) showed that the leucocytes of immunised animals acquire an important specific property which protects guinea pigs when injected together with B. typhi in the peritoneum; the author extracted from the leucocytes the products that ensure this protection.

The results of LEVADITI and BANU's experiments (1920) do not speak in favour of the local formation of agglutinins in the subcutaneous cellular tissue; thus the inflammatory process and oedema, which constitute the local lesion when one injects an emulsion of *B. typhi* with gelatin and colloidal mercury, do not influence favourably but on the contrary hinder the formation of agglutinating antibodies.

TISCORNIA (1921) ascertained that leucocyte extracts of guinea-pigs, immunised against *B. typhi*, when

inoculated in the peritoneum together with a minimum lethal dose, showed quite definite protective properties He concludes from his experiments that in a phase of immunisation the leucocytes, and specially the neutrophiles play a part in the production or modification of special cellular substances; the demonstration of these substances is easy when they are freed suddenly and violently from the leucocytes, but in the circulating blood they are probably secreted in a certain quantity. One may deduct that the production of these special immunising leucocytic substances and their appearance in the circulation being more prompt and intense, is a result of the leucolysis following every leucocytosis.

METALNIKOW and GASCHEN (1922) attribute an important part in the formation of antibodies in invertebrates (Galeria larvae) to various cells of the blood of these insects.

ROBERTSON and ROUS (1922) assert the existence of intercellular agglutinins in the red blood-corpuscules of the rabbit, and declare them to be easily demonstrable in the watery extracts of dried corpuscles.

4o) The antibodies are formed by hematopoietic organs:

PFEIFFER and MARX (1898) titrating simultaneously bactericid antibodies in serum and leucocyte-extracts, demonstrated that the leucocyte-extracts showed no excess of antibodies as compared to the serum and ascertained besides a decided accumulation of antibodies in certain organs of the rabbit (spleen, bone-marrow, lymphatics glands, and to a lesser extent, the lungs) during the first days of immunisation. The spleen showed, already on the second day, a perceptible quantity of protective substances against cholera, although the blood showed no sign of a specific alteration. They thought the hematopoietic organs to be the point of origin of the antibodies, and that any excess of antibodies in these organs would represent an excess of production not accompanied by an equally rapid elimination into the blood.

DEUTSCH (1899) ascertained that splenectomy preceding an immunising injection does not prevent the formation of agglutinins; carried out 3-5 days after the injection it prevents quite clearly the formation of antibodies.

V. EMDEN (1899) immunising rabbits with *B. aerogenes* and searching for agglutinins in the blood and various organs verified that sometimes spleen extracts have a higher agglutinating titre than the blood; agglutinin-formation is hindered by splenectomy, but even so continues; he therefore admits that besides the spleen other organs, specially lymphoid organs are able to elaborate agglutinins.

WASSERMANN (1899) studied the action of sera and extracts of different organs of rabbits immunised with virulent pneumococci on the course of experimental pneumococcus infection. The extracts of bone-marrow showed greater quantities of antibodies than any other organ, and, in the first stages of immunisation the protective power of bone-marrow and of other blood forming organs exceded that of the serum. He thinks that the bone-marrow is the seat of the production of antibodies and that the lymphatic glands, the thymus and spleen are simply reservoirs.

JATTA (1900) ascertained that the agglutinating titre (*B. typhi*) of spleen extracts, between second and fourth day of immunisation, is considerably superior to that of the blood, equal to it on the fourth day, and considerably inferior to it on the eight day.

HEKTOEN (1909-1910) pointing out the irregularity of the graphics of the production of different antibodies in the same animal suggested that they are distinc substances, the production of which depends on a similar but not identical mechanism.

LIPPMANN (1911) after immunising animals with repeated inoculations of killed cultures of *B. typhi*, left them for 4 months during which the agglutinating titre decreased gradually to a constant mean figure; then injected them with 0,1 gr of arsacetin, a substance whose stimulating influence on the blood forming organs is well known and applied in the treatment of anemia. He ascertained a rapid rise in the titre of the agglutinins which attained its maximum at the and of 6-9 days.

HEKTOEN (1916) verified a reduction in the formation of antibodies in animais intoxicated with benzol together with severe lesions of the bone-marrow, leucopenia and other lesions characteristic of benzol-intoxication. He found also a reduction of the phagocytic properties of the leucocytes. In dogs, small doses of benzoi which produce leucocytosis, increase the production of antigoat hemolysins.

Benzol acts on the elements which elaborate antibodies and the leucocytogenic centres take part in this elaboration. This is demonstrated in rabbits by the reduction in number of the leucocytes and in quantity of the antibodies, which does note take place when the benzol is given at the time when the production of antibodies is nearly at its height; in dogs by the increased formation of lysins which is accompanied by leucocytosis.

CARREL and INGEBRIGSTEN (1912) ascertained that fragments of bone-marrow and of lymphatic glands cultivated outside the organism are able to produce antibodies (hemolysins).

LUDKE (1912) ascertained the production of agglutinins and hemolysins in bone-marrow and pieces of spleen taken from guinea-pigs and rabbits 24, 48 and 60 hours after the intravenous injection of killed cultures of *B. typhi* and *B. dysenteriae* and kept aseptically in saline solution, solution of RINGER, and normal rabbit and guinea-pig serum at 37o—40o C. At the 5th day of cultivation the spleen emulsion agglutinated up to 1:160 and bone-marrow 1:320.

Inoculating directly in the bone-marrow and killing the animal at the end of 36-48 hours, amputating the femur and cultivating it in the above-mentioned culture media, he was also able to verify the existence of bactericid antibodies and agglutinins in the emulsion of bone-marrow.

TSURUMI and KOHDA (1913) came to the conclu-

sion that the spleen is the most important site of production of complement fixing antibodies and that it already contains them 20 hours after immunisation ; the production in bone-marrow and lymphatic glands is not as pronounced as in the spleen, and the quantity found later is also less.

LIPPMANN (1914) studied the influence of thorium X, and arsenical compounds on the graphics of antibody production. In animals previously immunised and allowed a month's rest, he found an increase of the agglutinins *(B. typhi)* in the serum surpassing the previously attained maximum after an application of thorium X (about 1 1/2 electrostatic units per kilogramm of weight). This he attributes to a stimulating influence of thorium on the bone-marrow. Entirely similar researches carried out with antibodies of the nature of amboceptors (hemolysins) gave negative results; neither by the application of thorium X, nor by the application of salvarsan, which has also a distinctly stimulating action on bone-marrow, did he obtain any modification in the graphics of hemolysin production. Animals (mice) injected with bone-marrow-stimulating substances (salvarsan and thorium X) resist an infection (cultures of pneumococcus) lethal to controls.

SIMONDS and JONES (1916) made researches on the influence of benzol on the production of antibodies; this substance exerts a decidedly noxious action on the blood forming organs, specially on the bone-marrow. They noticed a lowering in the graphics of the production of hemolysins, agglutinins and opsonins as compared with controls ; this reduction was most accentuated in the case of hemolysins and least in that of opsonins.

SIMONDS and JONES (1915) investigated the modifications in the production of antibodies, on the one hand in rabbits subjected to the action of X rays, which have a specific destructive action for lymphadenoid tissue, on the other hand on animals treated with benzol, which exerts a specific destructive action on the bone-marrow. The action of X rays is not as specific as was supposed; since HEINKE demonstrated that it also produced lesions in the bone-marrow, a fact which ought to be taken into account when reading SIMONDS and JONES results. These are as follows : a) the formation of agglutinins in animals exposed to X—rays is markedly reduced, though not as much as in rabbits inoculated with benzol; b) bacteriolysin-formation does not appear to be much influenced by exposure (o x-rays; c) there is no perceptible modification in the contents of the se rum in opsonins and of the complement-fixing power in rabbits exposed to X—rays.

HEKTOEN (1918), who stands for the formation of the antibodies by the blood forming organs, ascertained that the esposure of animals to X—rays harmed considerably and sometimes even prevented entirely the formation of antibodies, when carried out at the time of the injecting of antigen, having, on the contrary, no effect when the injection was made at the time when the production of antigens was at its height ; a similar resistance was shown by animals inoculated with benzol ni the period of active production of antibodies.

Experiments of HEKTOEN (1920) seem to indicate clearly that, after the process of formation of antibodies is well on its way, splenectomy has little or no influence of the contents of the serum in antibodies, although at times, its effect was uncertain and variable ; thus in a rabbit after the injection of a big dose of sheep blood, splenectomy has little or no effect on the production of antibodies; on the other hand if it is carried out on the same animal, even many weeks beforehand, it has an influence on the formation of precipitins.

MORESCHI and VOTKY and HOWELL (1920) observed the absence of agglutinin and opsonin formation (HOWELL) in patients of leukaemia in which lesions of the bone-marrow are intense.

An argument in favour of the formation of agglutinins by hæmatopoietic organs and specially by the bone-marrow, consists in the regeneration of the blood provoked in immunised animals, by repeated bleedings and accompanied by an increased production of antibodies. This fact was estabiiahed by HAHN and LANGER ; the authors who reproduced their technic did not confirm their results. It seems, however, that these depend on the opportuness of the bleeding, for JOTTEN (1920), who was unable to obtain any results with HAHN and LANGER's technic obtained an increase of 40 to 100 times (according to whether the results were read after 2 or after 24 hours) ou the titre of the serum in agglutinins *(B. typhi)*, by bleeding rabbits of 5 or of 20 cc. from the second day of inoculation.

Intravenous injections of chlorides of manganese, nickel, cobalt aud zinc produce a marked and rapid increase in the concentration of agglutinins and diphteria antitoxin (WALBUM, 1921).

5o) Organs other than the blood-forming ones also influence the production of antibodies.

M'GOWAN (1909), studying the lesions of the organs of rabbits inoculated with chicken red-blood corpuscles, noticed an acumulation of theses injected corpuscles in tha sinusoids of the liver, to a greater extent than in any other organ and lasting much longer ; he thought this accumulation in the liver, together with the known phagocitic activity of the hepatic cells and their well-known action on the products of digestion, reinforced the idea that the liver was the seat of the formation of antibodies. These are very unsubstantial facts to support such an assertion.

NOLF and MULLER (1911) are of the opinion that natural cytolysins (normal alexins and amboceptors) have their origin somewhere about the liver. Their principal experiments try to demonstrate the prompt disappearance of natural complement and amboceptors after the suppression of the hepatic circulation, and their persistance after an extreme traumatism, such as the extirpation of all the abdominal organs with the exception of the liver, provided the latter remain physiologically (functionally) intact, as also the possibility of increasing the

alexic and sensitising power of the blood by making it circulate in live isolated livers.

HOUSSAY and SORDELLI (1921) found that rabbits dogs and horses, whose thyroid was extirpated, furnished a greater quantity of hemolysins, agglutinins and antitoxins than controls.

ECKER and GOLDBLATT (1921) showed the necessity of an exact knowledge of anatomy in the experiments of extirpation of the thyroid and para-thyroids and ascertained that thyreoidectomy with partial parathyreoidectomy did not inhibit the production of antibodies (hemolysins). whereas in the few animals who survive a complete thyro parathyroidectomy the production of hemolysins is reduced to a fiftieth of the normal.

SESTINI (1921) assertes that during immunisation against *B. typhi* the thyroid of guinea-pigs undergoes a process of hyperplasia and shows intense morphologic indications of cellular hypersecretion.

CUTLER's experiments (1922) show that the hypophysis does not have an important influence, direct or indirect, on the production and persistence of agglutinins and hemolysins in the blood, unless the part of the hypothysis which is indispensable to the survival of the animal, syould not have the same influence as the wyole gland.

6°) The antibodies pre-exist in the blood and liquid tissues of the body.

New ideas were advocated recently by SAHLI (1920).

SAHLI disagrees with EHRLICH in thinking the protoplasm not to be the seat of production of antibodies. The origin of these antibodies is the blood itself (which according to SAHLI is a secretion) and the liquid tissues ; the cells produce the antibodies physiologically responding to stimuli from the blood and liquid tissues.

The different antibodies preexist in the blood; by the admission of the antigen (immunisation) an artificial increase is obtained and this according to the well-known law that a secretion increased to cover a defiency exceeds the necessary quantity.

The production of antibodies would be merely a particular case of blood-regeneration, an excessive regeneration. This would take place on account of the following : Antigen and antibody unite in a colloidal combination and the function which the antibody exerced up to then ceases on that account.

The organism reacts to this loss of antibody, which had its own function, by an increased secretion, so as to produce a new and greater amount of antibodies.

II—Material and Methods of Research.

We examined the bone-marrow of 54 rabbits, some under normal conditions, most (40) of them in various stages of immunisation for the obtention of agglutinins.

The animals, killed when opportunity arose, where immediately necropsied; those which died in the course of the experimentation, where only made use of when the post-mortem could be carried out immediately after death.

In all cases the bone-marrow of the femur of both sides was examined.

The femur, once freed of the soft parts that covered it, was cut through, as near as possible to the epiphyses, with a costotome. At one end of the bone-canal I would make two incisions with sharps scissors and these would be extended carefully in such a way as to fracture the whole length of the bony tube.

Almost always one of the halves would then contain a perfect cylinder of bone-marrow. In the cases im which the consistency of the bone-marrow was reduced the results obtained were less satisfactory.

The piece of bone to which the marrow remained stuck was then placed in the fixing-fluid, or else the cylinder of bone-marrow was gently detached from the bone with the aid of pincers, and small pieces cut with the scissors were dropped successively in sublimate-alcohol and ZENKER-formol (without acetic acid), the fixing-fluid employed.

Embedding was carried out in paraffin and the sections were coloured by GIEMSA's fluid method (fixing in sublimate-alcohol) and with hæmatoxylin-eosin (fixing in ZENKER-formol).

In some cases the material was fixed only in ZENKER-formol in which cases the sections stained by GIEMSA's method were less satisfactory than the ones stained with hæmatoxilin-eosin. In other cases the only fixing-fluid employed was sublimate-alcohol; besides first-rate preparations by GIEMSA's method I obtained good hæmatoxylin-eosin ones: the staining in undiluted HANSEN's hæmatoxylin must then not exceed one minute.

I observed that shrinking was more

pronounced in material fixed in sublimate-alcohol than in material fixed in ZENKER-formol.

It is therefore more advantageous to use both fixing-fluids since the comparative study of the results obtained is then more instructive.

For certain purposes (research of fibrin, identification of reticulum-cells) I made use of various general methods (methods of MALLORY with anilin-blue and hæmatoxylin-phosphotungstic acid, V. GIESON, etc.).

Most of the animals were immunised by intravenous injections; a small number by intraperitoneal or subcutaneous ones.

In one group, the animals were inoculated on the same day with the same emulsion from the same 24 hours' culture of *B. paratyphi A*.

The emulsion was made in the following way:

Emulsion A. — I prepared 10 test-tubes, each one with 2 cc. of saline solution; in each tube I made an emulsion with a loop tested for 0,002 grs. taken from a 24 hours culture of *B. paratyphi* A; the contents of the 10 tubes were mixed in a flask which was then placed in a water-bath at 60°C. for an hours time; the contents were then shaken and 2 cc were placed in each test-tube; 10 rabbits were injected in the marginal vein of the ear, each rabbit with the contents of one of the tubes.

In another and larger group, I inoculated each rabbit (of the weight of 950-1.500 grs) intravenously, subcutaneusly and intraperitoneally with an emulsion in saline solution of 24 hours' culture in agar of *B. paratyphi A* (1 loop of 0,002 grs. 2 cc. saline solution, killed by heating during an hour in a water-bath at 65°C. The counting of white corpuscles was done in an American standard Hæmacytometer with LEVY counting chamber.

As a general rule I made 4 simultaneous determinations of the number of leucocytes, sometimes only 3 or 2, making use of the average of the figures obtained.

The normal number of white corpuscles in the rabbit is estimated at 5-14.000 (GRUBER), about 9.000 (HEINEKE), 9-12.000 (PROSCHER), 8-13.000 (TALQVIST). Recently PENTIMALLI, examining 10 normal rabbits, reported individual variations in the number of white corpuscles going from 4.520 to 10.300 per mm3 so that he advises great caution in the interpretation of slight oscillations: the figure 6.876 is the average he obtained.

My researches controlled by the histological examination of the bone-marrow, gave the following results:

Table I

Number of the animal	Weight	Nr. of white corp. per mm³.
Rabbit 268	1.500 grs	16.000
376	970 grs	10.697 (4 days' average)
300	1.060 grs	10.600
269	1.500 grs	7.400
		11.174 (average).

After working for some time, I was able to give SELLING's recommendation its due value, for advising one to to observe the number of white corpuscles of each rabbit on three consecutive days and after that only making use

of the ones which did not show considerable daily oscillations (1) or an abnormal number.

The following observations of mine demonstrate how sensitive bone-marrow is to pathological conditions, showing considerable morphologic modifications which would introduce an important cause of error into the interpretation of experiments carried out under such conditions.

I adopted the following method.

The rabbits were brought directly from the rabbit-hutches of the Institute to the laboratory and were killed as soon as the number of white corpuscles had been taken note of.

In table II are indicated the results obtained.

(1) These oscillations rarely exceed 3—4000 white corpuscles per mm³ of blood. The following rabbit may be taken as a normal rabbit with typical daily oscillations:

Feb. 16 th 1921—White corpuscles=9.733 per mm³ (average of 3 determinations).

Feb. 17 th 1921—White corpuscles=11.533 per mm³ (average).

Feb. 18 th 1921—White corpuscles=12.266 per mm³ (average).

Feb. 19 th 1921—White corpuscles=9:256 per mm³ (average).

Table II.

Animal	Weight	Number of white corpuscles in 1 mm³ of blood.	Killed on	Notes	Microscopic study of bone-marrow.
Rabbit 127	—	5.400	.....	.....	Congestion and slight œdema of reticulum.
Rabbit 128	—	34.400	.....	.....	Bone-marrow with normal aspect.
Rabbit 130	—	12.200	.....	.....	Slight œdema of reticulum; reduction in number of the parenchyma-cells.
Rabbit 271	800 grs.	(On June 3rd 1920 at 2.55 p. m.) 16.000	June 3rd 1920 at 3.10 p. m.	Killed by violent anaesthesis (Chloroform)	Bone-marrow showing pronounced œdema of reticulum, atrophy of fat-cells and foci of multiplication of myeloblasts.
Rabbit 268	1.500 grs.	(On July 17th 1920 at 2.45 p. m.) 16.000	July 17th 1920 at 3.30 p. m.	Do.	Bone-marrow with normal appearance.
Rabbit 269	1.500 grs.	(On July 17th 1920 at 3.20 p. m.) 7.400	July 17th 1920 at 3.35 p. m.	Do.	Bone-marrow with normal appearance.
Rabbit 275	—	———	Aug. 7th 1920 when agonising.	Do. Remained a few days in the laboratory getting rapidly thinner.	Pronounced oedema of reticulum, congestion, atrophy of fat-cells, regressive changes in parenchyma, abundance of pigment-cells (haemosiderin) are to be seen.
Rabbit 300	1.060 grs.	(On Sep. 2rd 1920 at 2 p. m. 2.00 p. m. 10.600.	Sep. 3rd 1920	Killed by violent anaesthesis (Chloroform).	Bone-marrow with normal aspect.

Under a strong power one notices that the most numerous cells are amphophil myelocytes and polymorphonuclear leucocytes, there being also found amongst them, looking like a diffused infiltration, small cells with nuclei very rich in chromatin and resembling blood lymphocytes in their morphology.

The megalocaryocytes are not found in reduced number; their nucleus appears well-stained and with its normal structure.

Many of the megalocaryocytes found enclose one or more leucocytes in their protoplasm.

The fat cells are found reduced in volume; the fat-containing vacuole is smaller than in similar cells of normal bone-marrow; in many cells this reduction amounts to one half or one third of normal volume, and, not infrequently, in others to one tenth of normal volume.

In cells whose vacuole is reduced to one half or one third, the nucleus retains its peripheric position and its normal appearance. The nucleus of cells reduced to one tenth of their volume is more evident, as it becomes tumid and vesicular; this kind of cell does not show pyknosis or any other aspect indicating regressive changes.

The appearance described for the fat-cells of rabbits 212 and 210 (enlarged nucleus, with a tendency to leave its excentric position and surrounded by a zone of protoplasm with an evidently reticular structure) was only rarely seen in this rabbit.

The lesions found in the bone-marrow of rabbit 214, killed 46 hrs 30 mins. after the commencement of immunisation can be seen in the following résumé:

1°) *Congestion and œdema of reticulum.*

2°) *Slight reduction in number of the cells of the medullary parenchyma; amphophil myelocytes and polymorphonuclear leucocytes predominate; the last are found in their normal number, but appear more numerous on account of the reduction in number of the cells.*

3°) *Dispersed infiltration of parenchyma with cells of the appearance of blood lymphocytes.*

4°) *Megalocaryocytes normal in number and in appearance many of them containing one or more polymorphonuclear leucocytes.*

5°) *Fat-cells fewer and smaller than in normal bone-marrow, with a nucleus of normal appearance; some other fat-cells very much smaller (one tenth and even less of normal volume).*

The appearance of the fat-cells I believe to indicate a stage of reconstruction or recomposition. After the loss of fat observed in the first 24 hours of immunisation and which is indicated by a special appearance of the cell (see description rabbit 212), these cells begin to regain fat-contents.

3rd. Day of Immunisation.

Rabbit 450—Weight 1.150 grs.

Killed 60 hours after inoculation.

Feb. 5 th 1920—Leucocytes: 12.15 p. m.=8000 per mm³.

Inoculated at 4 p. m. in the marginal vein of ear with 1 cc. of saline solution with a loopful (2 milligrs.) of a 24 hours' agar-agar culture of *B. paratyphi A.* in suspension. The suspension was sterilised by heating in a water-bath at 60°C. during 1 hour 30 mins.

Feb. 26 th 1920—Leucocytes (11 a. m.)=33.400 per mm³.

Feb. 27 th 1920—Leucocytes (3.30 p. m.)=34.800 per mm³.

Feb. 28 th 1920.

Found dead in the morning.

Examined under good conditions of preservation.

Autopsy — Bone-marrow soft, diffluent, of a dark red colour; in the centre (in the part corresponding to the length diameter) a dark-red and strong cord stands out from the medullary parenchyma (central vessels of bone-marrow).

Microscopical study.—Section of the material fixed in ZENKER-formol and

stained in hæmatoxylin-eosin and fluid GIEMSA.

Cellular contents of marrow approximately normal.

Capillary congestions remains very marked (Fig. 9, Pl. 21).

The œdema has suffered resorption and is only to be seen here and there in an inconspicuous manner.

The most abundant cells are amphophil myelocytes and polymorphonuclear leucocytes (Fig. 10, Plate 21); some myelocytes show mitotic figures and dispose themselves in foci.

Conspicuous foci of division of erythroblasts (normoblasts) are to be seen, some of them not only in the middle of the parenchyma, but also round the medium-sized vessels and prae-capillaries (Fig. 11, Plate 21).

The diffuse infiltration of the parenchyma by cells with the appearance of lymphocytes is evident. (Fig. 9, Plate 21).

The fat-cells show the same appearance as in rabbit 214.

Almost all megalocaryocytes contain in their protoplasm some polymorphonuclear leucocytes; some megalocaryocytes show regressive changes.

The similarities and differences between the ones here described (3rd day of immunisation) and the previously indicated ones are the following:

Tere is a beginning resorption of the œdema of the reticulum.

The bone-marrow is almost as rich in cells as under normal conditions, these cells are principally myelocytes and polymorphonuclear leucocytes.

Foci of regeneration of hæmoglobin-containing elements (perivascular foci of erythroblasts (normoblasts)) begin to appear.

Regeneration and replacement of fat-contents of fat-cells continues.

Lymphocytes become scarcer and loose the appearance of a diffuse infiltration.

Megacaryocytes show a pronounced phagocytic activity and undergo processes of desintegration.

3rd. Day of Immunisation.

Rabbit 216.—Weight 1,300 grs.

Inoculated in marginal vein of ear with a sterilised *B. paratyphi A.* emulsion (emulsion A) at 3.30 p. m. on April 7 th 1920.

Killed at 12.50 p. m. on April 10 th 1920 (72 grs, and 20 mins. after inoculation).

Autopsy carried out at once.

Autopsy—Bone-marrow (femur) with normal soft consistency and dark red colour. Disseminated spots of a whitish colour are to be seen.

Microscopic study.—Sections fixed in ZENKER-formol stained in hæmatoxylin-eosin and fluid GIEMSA.

Under a weak power congestion of capillaries, œdema of reticulum, reduction in parenchyma cells, disappearance of fat-cells and increase of fixed connective-tissue cells (Fig. 3, Plate 20), the latter dicreased are to be observed.

A strong power shows that the dominant cells are myelocytes and leucocytes; there is also a diffused but not intense infiltration of cells with the appearance of lymphocytes.

Myelocytes are frequently found in little groups of 2, 3, 4 or 6, rarely of more cells; the most numerous groups are the ones of 4 (Fig. 6, Plate 20).

The bone-marrow shows an evident decrease in number of cells.

These cells are found close to the capillaries.

This *perivascular distribution* of marrow cells (in this case polymorphonuclear leucocytes and myelocytes) in this rabbit can be looked upon as a striking example.

The fat-cells are not in evidence; in their protoplasm no fat-containing vacuole is visible; limits of protoplasm are indistinct and merge into the œdema-fluid of reticulum. These cells are only recognisabe by the structure of their

nuclei and by comparison with their appearance in other rabbits, in which transition types between these and typical fat-cells are to be found. I must call attention to the resemblance of the nucleus of these atrophied cells to those of fixed connective tissue cells.

The nucleus of fat-cells retains a typical structure in spite of the most marked alterations of the protoplasm: thus, after the total loss of the fat-contents of the protoplasm, the nucleus is only slightly more tumid and rounded and has left its peripheric position to occupy the centre of the cell. The arrangement and disposition of the nuclear chromatin is very similar to that of fat-cells from normal bone-marrow. One would be inclined to say that the important modifications of the fat-contents were physiological and not pathological.

In this bone-marrow increase in number of the fixed connective tissue cells is evident; in some places (Fig. 8, Plate 20), the parenchym is made up of 10 to 15 cells placed side by side and one behing the other. The nuclear structure of these is that of the fibroblasts; the connective tissue fibrils can be clearly distinguished.

These points where many fibroblasts place themselves side by side are not very common, however: almost always fibroblasts of characteristic appearance are seen mixed with other bone-marrow cells. All those who have studied normal bone-marrow will be well aware of the difficulty of recognising the fixed connective tissue-cells under normal conditions.

Besides small cell foci which are the foci of division of myelocytes and of hæmoglobin-containing cells (megaloblasts and normoblasts) other more extensive foci, made up of numerous densely grouped cells and contrasting markedly with the neighbouring parenchyma, are to be seen (Fig. 7, Plate 20).

Under a strong power the cells which make up the dense groups are seen to be numerous polymorphonuclear leucocytes: Many of these in one point, covering one another show a pyknotic nucleus and others are evidently undergoing complete desintegration. This point gives the impression of a small *infarct* (Fig. 7, Plate 20).

Among the densely grouped cells indicated may be seen the characteristic cells of bone-marrow parenchyma.

Condensing the facts, the bone-marrow of this rabbit, killed 72 hrs. 20 mins. after the commencement of immunisation, shows the following points of interest:

1°) *Regeneration of polymorphonuclear leucocytes (by intense division of myelocytes) is the dominant feature.*

2°) *Fat-contents of the fat cells are noticed to have disappeared completely.*

3°) *Infiltration of lymphocytes, so marked in rabbits 212 and 214, is in this case very slight.*

4°) *In this case hyperplasia of the fixed connective tissue cells is seen for the first time in this series.*

5°) *Other foci besides foci of regeneration of haemoglobin-containing cells (perivascular foci of megaloblasts and normoblasts) are seen.*

6°) *The whole process is evidently belated, as compared to the process observed in rabbit 150, killed 60 hours afte the commencement of immunisation.*

6th. Day of Immunisation.

Rabbit 497—Weight 1.030 grs.

April 28 th 1921—1.35 p. m.—Leucocytes=16 750 (average).

April 29 th 1921—1.30 p. m.—Leucocytes=10 250 per mm³ (average of 4 measurements).

May 1 th 1921—2.00 p. m.—Leucocytes=15 800 per mm³ (average of 4 measurements).

May 5 th 1921—1.40 p. m.—Leucocytes=14 230 per mm³ (average of 4 measurements).

May 6 th 1921—12.55 p. m.—Leucocytes=14 350 per mm³ (average of 4 measurements).

May 6 th 1921—Subcutaneous injection of 1 loopful of 2 milligramms of a 24 hours gelose culture of *B. pa-*

ratyphi A. in suspension in saline solution and killed in a water-bath at 62oC. during an hour.

May 12 th 1921—Rabbit was killed by violent narcosis with chloroform (death took place in 1.20 mins).

Histologic study—Under a weak power the bone-marrow is seen to be rich in cells, less so however than under normal conditions; the regularly distributed vacuoles which in normal bone-marrow correspond to fat-cells appear to be wanting.

Under a strong power, the fat cells are seen to be reduced in volume and have to a certain extent disappeared; here and there a fat-cell strongly reduced in volume and with its nucleus migrated towards the centre is to be seen; almost always the part of the reticulum round it is strongly stained by eosin.

There is no congestion.

The œdema of the reticulum is less marked than in the preceding rabbits; it is confined to certain parts of the reticulum which are intensely stained by eosin.

Of parenchyma cells, the most numerous are polymorphonuclear leucocytes which quite mask the remaining parenchyma cells.

Erythrogenetic groups are in evidence.

Megalocaryocytes with normal appearance and distribution.

Examining sections from different blocks, I noticed slight modifications of the aspect indicated; in some points there was more accentuated œdema and parenchyma cells were less numerous.

7th. Day of Immunisation.
Rabbit 218—Weight 1300 grs.

Inoculated in marginal vein of ear with 1 cc of a suspension of *B. paratyphi A.* (liquid A) at 3.30 p. m. on April 7 th 1920.

Found dead on April 4 th 1920. Necropsied when still well preserved.

Autopsy.—The bone-marrow (femur, both sides) shows firm consistence and a shining surface; colour is brick red and fine granulations, white and refringent, are to visible.

Histologic study.—Under a weak power the appearance of the bone-marrow is entirely different from the normal.

Capillaries are dilated and filled with red blood corpuscles (Fig. 13, Plate 22).

The parenchyma cells, which are numerous, show a tendency to group themselves along the capillaries (Fig. 13, Plate 22.)

Under a strong power the myelocytes are seen to be the dominant element. Not only do amphophil myelocytes constitute the majority of the cells found round the vessels but they also form groups of 4 or 6 cells in the parenchyma, between the capillaries, where they place themselves over the fat-cells (Fig. 16b, Plate 17); in the latter case they have the appearance of a group of cells (myelocytes) surrounded by a clear halo (body of the fat-cell).

Other fat-cells have approximately normal dimensions (Fig. 16a, Plate 17).

Polymorphonuclear leucocytes are scarce. Lymphocytes are not plentiful; they are found mostly round the small arteries.

The hæmoglobin-containing elements affect a grouped disposition; these groups are formed by few cells and are much less conspicuous than the ones of myelocytes; it is easy to find erythroblasts with *karyorrhexis*.

Myelocytes are as numerous as in the normal organ; many of them contain phagocyted granulocytes.

Foci made up of big cells with an elongated nucleus and sometimes narrowing towards the middle (shape of a figure 8), with little chromatin, which I take to be connective tissues cells, are often seen in the sections. Only once and again do these foci contain any other cells besides connective tissue cells; sometimes a granulocyte sometimes non-granular mononuclear leucocytes.

Rabbit 373—Weight 1400 grs.

Feb. 4 th 1921—Leucocytes (1.25 p. m.)=16 550 per mm³ (average).

Inoculated at 1.10 p. m. on same day with 1 cc of saline solution with a loopful (itrated for 2 milligramms) of a killed 24 hours gelose culture of *B. paratyphi A.* The injection was carried out uneventfully.

Feb. 11 th 1921—At 2.00 p. m. the rabbit died. It was at once autopsied.

Autopsy.—Subject in strongly emaciated. Viscera-lungs, liver, spleen, heart and kidneys show a normal aspect. There is no pneumonia, coccidiosis lesions or myxoma.

Bone-marrow of a more or less firm consistence; it is pale in ill-defined tracts, brownish-red in others and is rather opaque than otherwise.

Histologic study.—The lesions of the bone-marrow are of the same kind as those of rabbit 218, with slight individual differences. The parenchyma cells are less abundant than in rabbit 218; there is active hyperplasia of the myeloid cells, which group themselves round the vessels and make up foci in the substance of the parenchyma.

The polymorphonuclear leucocytes, in opposition to the previous case, are very numerous, as numerous as the myelocytes.

The fat cells are noticeably smaller than normal fat-cells. Erythrogenetic groups are not conspicuous.

The lesions of the bone-marrow on the 7th day of immunisation are chiefly hyperplasia or intense proliferation of myelocytes, which group themselves round the vessels in a quite evident way; the evolution of myelocytes towards polymorphonuclear leucocytes goes on in an active way; there is individual variation with regard to the numerical prevalence of these two kinds of cells.

There is persistance of the capillary congestion; the œdema of the reticulum is inconspicuous.

The fat-cells are reduced in volume; some of them, however, have already regained their size; others are hidden by the hyperplastic myelocytes.

Cells belonging to the class of the hœmoglobin-containing cells are found, but are very much less conspicuous than those belonging to the myeloid class of the myelocytes.

Small foci of fibrosis (proliferation of connective tissue cells) are plentiful, and indicate, probably, the organisation of small hœmorrhagic foci.

10th Day of Immunisation.

Rabbit 405—(1)—Weight 950 grs.

April 11 th 1921—Leucocytes= 14 400 per mm³ (average).

April 11 th 1921—(T. 20 p. m.) Leucocytes=16 500 per mm³ (average).

April 14 th 1921—(41.10 p. m.) Leucocytes=18 450 per mm³ (average).

April 15 th 1921—(12.40 p. m.) Leucocytes=19 550 per mm³ (average).

April 16 th 1921—(12.35 p. m.) Leucocytes=15 333 per mm³ (average).

On April 16 th 1921 he was inoculated intraperitoneally with 1 loopful (2 milligramms) of a 24 hours culture on slanting gelose of *B, paratyphi A.* killed by heahring in a water-bath during an hour at 65°C.

April 26 th 1921—Killed by violent narcosis with chloroform at 2.15 p. m.

Death occured after 1.15 mins.

Autopsy—The bone-marrow did not show any macroscopic lesions.

Rabbit 408—Weight 1.140 grs.

April 28 th 1921—(1.40 p. m.)—Leucocytes=10 950 per mm³ (12 800=11 600=10 600=8 600).

May 4 th 1921—(1.30 p. m.)—Leucocytes=15 950 per mm³ (16 800=14 800=14 600=13 600).

May 5 th 1921—(2.05 p. m.)—Leucocytes=19 400 per mm³.

May 6 th 1921—(1.00 p. m)—Leucocytes=12 850 per mm³ (13 000=12 400=11 600=10 400).

On May 6 th 1921, at 1.45 p. m,, this rabbit was inoculated subcutaneously with a loopful (2 milligramms) of a 24 hours culture on gelose of a *B. paratyphi A.* in suspension in saline solution and sterilised by heating in a water-bath at 65°C. (1 hour).

May 16 th 1921—The rabbit was killed by violent narcrosis with chloroform (15 mins.).

---

(1) This rabbit (405), which showed an abnormal number of leucocytes in the days preceding immunisation, was used nevertheless for our studies, as the lesions of the bone-marrow were perfectly similar to those found in the following rabbits which had a normal number of leucocytes.

Table III.

Rabbit	Weight	Date	Time	Number of leucocytes per mm³ of blood.	Death	Microscopic study of bone-marrow.
375	1.180 grs.	Feb. 16th921 Feb. 17th921 Feb. 18th921 Feb. 19th921	1.00 p. m. 4.10 p. m. 4.15 p. m. 11.30 a. m.	16.400 (average of 2 determ.) 14.933 (« « 3 «) 7.133 (« « 3 «) 20.600 (« « 2 «)	Violent narcosis (chloroform) at 1.15 p. m. on Feb. 19 th 1921.	Discrete oedema of reticulum and slight congestion. Otherwise the bone-marrow shows normal appearance.
376	970 grs.	Feb. 16th921 Feb. 17th921 Feb. 18th921 Feb. 19th921	1.15 p. m. 3.35 p. m. 4.00 p. m. 11.25 a. m.	9.733 (average of 3 determ.) 11.533 (« « 3 «) 12.266 (« « 3 «) 9.256 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform) at 1.55 p. m. on Feb. 19 th 1921.	Absolutely normal structure.
377	950 grs.	Feb. 16th921 Feb. 17th921 Feb. 18th921 Feb. 19th921	1.25 p. m. 4.00 p. m. 3.55 p. m. 11.10 a. m.	21.700 (average of 2 determ.) 17 250 (« « 4 «) 11.750 (« « 4 «) 20.666 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform); death within 2 mins, at 2.10 p. m. on Feb. 19 th 1921.	Pronounced œdema of reticulum, atrophy of fat-cells, reduction in number of the parenchyma-cells (aplasia), discrete congestion.
381	1.260 grs.	March 8th921 March 9th921 March 14th921 March 15th921 March 16th921	1.10 p. m. 12.50 p. m. 3.10 p. m. 1.55 p. m. 1.55 p. m.	10.150 (average of 4 determ.) 9.800 (« « 4 «) 14.500 (« « 4 «) 13.000 (« « 4 «) 17.800 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform); death in 1.45 mins. at 4.10 p. m. on March. 16 th 1921.	Hyperplasia of parenchyma-cells (amphophil and eosinophil myelocytes with figures of karyokinesis; polymorphonuclear leucocytes).
382	1.110 grs.	March 8th921 March 9th921 March 14th921 March 15th921 March 16th921	1.20 p. m. 1.00 p. m. 3.25 p. m. 2.05 p. m. 2.05 p. m.	10.900 (average of 4 determ.) 26.100 (« « 4 «) 13.600 (« « 4 «) 19.050 (« « 4 «) 15.700 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform); death in 1.30 mins. at 4.25 p. m. on March. 16 th 1921.	Hyperplasia of parenchyma-cells (amphophil and eosinophil myelocytes and amphophil and eosinophil polymorphonuclear leucocytes).
383	1.200 grs.	March 8th921 March 9th921 March 14th921 March 15th951 March 16th921	1.30 p. m. 1.10 p. m. 3.40 p. m. 2.20 p. m. 2.25 p. m.	13.200 (average of 4 determ.) 8.800 (« « 4 «) 10.500 (« « 4 «) 12.350 (« « 4 «) 12.900 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform) death in 1.32 mins. at 4.33 p. m. ou March. 16 th 1921.	Normal appearance.

As the animals were submitted to close observation only some time after the work was begun, I was obliged to separate the animals into groups of very different demonstrative value.

Thus we have a Group I, in which the rabbits had a normal number of leucocytes during the term of observation and were killed without having suffered inoculation; Group II, the most important, comprehending animals under the same conditions as in Group I, but having been killed or having died in different stages of immunisation.

A Group III consists of animals that showed an abnormal number of white blood corpuscles during the term of observation.

In a Group IV, finally, I included all the rabbits that where not observed 8 days before being used for experimentation.

In this way each group serves as a control for the others, and constitutes a valuable material for comparative study.

This is a highly important point in the case of animals very sensitive to bad conditions of housing and feeding and liable to suffer from various diseases, the more so in the case of a study on a tissue like bone-marrow that shows important alterations in animals which at first sight appear perfectly normal.

Rabbits immunised Against Bac. Paratyphi A.

Rabbit	N. of animal	Injection.	Death	Term of immunisation.	Observations
1	131 A	intracardiac	Killed (by violent chloroform-narcosis.)	1 hour	Rejected: abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation.
2	364	intravenous	« « «	1 hour	In the bone-marrow, the most evident phenomenon is oedema of reticulum and atrophy of the fat cells, with a slight reduction in number of these cells. Congestion slight; there are well preserved polymorphonuclear leucocytes and megalocaryocytes. This rabbit is believed to have been abnormal; the only determination of the number of leucocytes was made a few minutes before injection.
3	365	«	« « «	1 hour	General appearance same as in 364. What is known about this rabbit before it was inoculated (leucocytes=64 600) leads me to think it was abnormal. Aplasia more marked than in no. 364.
4	223	«	« « «	2.20 hrs	Abnormal number of leucocytes.
5	391	«	« « «	2.38 hrs	Abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation; the histological study of the bone-marrow confirms the opinion that this is not a normal animal.
6	392	«	« « «	2.59 hrs	Abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation; the histological study of the bone-marrow conforms the opinion that this is not a normal rabbit.
7	368	«	« « «	3.34 hrs	Made use of for histological description.
8	369	«	« « «	3.57 hrs	Made use of for histological description.
9	393	«	Died	15 hs.	Spleen with intense inflammation. Rejected because it was not immediately autopsied and was undergoing cadaveric alterations.
10	397	«	«	15 hrs	Rejected: cadaveric alterations.
11	394	«	«	17 hrs	
12	210	«	«	17 hrs	Made use of for histologic description.
13	211	«	«	17 hrs	
14	372	«	«	19 hrs	The histological study of the bone-marrow confirms the observation that this is not a normal rabbit.
15	398	«	«	23.30 hrs	Rejected: autopsy made hours after death.
16	151	«	«	24 hrs	
17	152	«	«	24 hrs	
18	212	«	«	24 hrs	Made use of for histological description.

Rabbits immunised Against Bac. Paratyphi A.

Rabbit	N. of animal	Injection.	Death	Term of immunisation.	Observations
19	118 C	intravenous	Died	24 hrs	
20	131 B	«	«	24 hrs	Abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation; 24 hrs after inoculation pronounced leucocytosis (leucocytes=231 200 per mm³).
21	410	subcutaneous	«	24 hrs	
22	213	intravenous	«	36 hrs	Made use of for histological description.
23	153	intraperitoneal	Killed (violent chloroform narcosis).	2 days	Pronounced (leucocytosis leucocytes=96 600 per mm³) 24 hours after inoculation.
24	214	intravenous	« « «	2 days	Made use of for histological description.
25	403	intraperitoneal	Died	2 days	
26	150	intravenous	«	3 days	
27	215	«	«	3 days	
28	216	«	Killed (violent chloroform narcosis).	3 days	Made use of for histological description.
29	217	«	Died	5 days	Cadaveric alterations of parenchyma-cells.
30	367	intraperitoneal	Killed (violent chloroform narcosis).	5 days	Rejected. Abnormal number of leucocytes.
31	407	subcutaneous	« « «	6 days	Made use of for histological description.
32	218	intravenous	Died	7 days	« « « «
33	373	«	«	7 days	
34	221	«	«	8 days	Made use of for histological description.
35	222	«	«	8 days	« « « «
36	154	«	Killed (violent chloroform narcosis).	9 days	
37	405	intraperitoneal	« « «	10 days	Abnormal number of leucocytes; the lesions, however, are concordan with those of normal rabbits at the same period of immunisation.
38	408	subcutaneous	« « «	10 days	Made use of for histological description.
39	409	«	« « «	10 days	« « « «
40	133 A	intraperitoneal	« « «	14 days	« « « «

III—Histopathologic Study.

4 hours of immunisation.

Rabit 368—Weight 1.050 grs.

Inoculated on Jan. 26 th 1921 at 12.55 p. m. in marginal vein, of ear with 1 cc. of saline solution with 1 loopful (2 milligrs.) of a 24 hours' gelose culture of *B. paratyphi A.* in suspension and sterilised by heating in a water-bath at 65°C. forean hour.

Leucocytes (blood taken at 1.05 p. m.)=8 800 per mm³ (average).

Leucocytes (blood taken at 1.42 p. m.)=15 800 per mm³ (average).

Killed (violent narcosis with chloroform) at 4.44 p. m.

Autopsy. — Bone-marrow red, with whitish areas; shining surface. Consistence firm, slightly reduced. Central vein moderately turgid.

Histologic Study.—The arrangement of the parenchyma cells in groups occupying the spaces between the fat-cells is altered; the cells are disarranged and less numerous than under normal conditions. The most plentiful cells are the polymorphonuclear leucocytes; these sometimes arrange themselves round a fat cell like a crown (Fig. 14, Plate 17). Polymorphonuclear leucocytes are also to be seen occupying the territory of a fat-cell (Fig. 15, Plate 17), which would indicate a marked chemotaxis of the fat-cell for polymorphonuclear leucocytes.

The blood spaces are slightly dilated; there is also an inconspicuous œdema of the reticulum.

The fat-cells keep their normal volume.

Rabbit 369—Weight 1 300 grs.

Inoculated on Jan. 28 th 1921 at 1.000 p. m. in marginal vein of (2 milligramms) of a 21 hours' culture on slanting gelose of *B. paratyphi A.* sterilised by heating in a water-bath at 65°C. for an hour.

Number of leucocytes (counted at 1.13 p. m.)=5 000 per mm³ (average).

Killed by violent narcosis (chloroform) at 4.57 p. m. (3.57 hours after the commencent of immunisation).

Autopsy. — The bone-marrow has approximately the same appearance as in rabbit 368; its consistence is perhaps slightly firmer.

Microscopic Study.—The appearance is approximately the same as the one described in rabbit 368; slight congestion, inconspicuous œdema of reticulum, fat-cells with normal volume, disorder in the arrangement of the parenchyma-cells and abundance of polymorphonuclear leucocytes, grouping of these cells round the fat-cells; the latter have a well-preserved nucleus and some of them are entirely covered by polymorphonuclear leucocytes which appear to their surface (chimiotaxis) (Fig. 15, Plate 17).

The elements of the haemoglobin-containing class of cells are in this case more abundant than in rabbit 368.

At the end of the first four hours of immunisation, the bone-marrow of rabbits 368 and 369 show a slight congestion, inconspicuous oedema of reticulum and a disorder in the arrangement of the parenchyma cells, which are less numerous than under normal conditions, and above all an intense transformation of myelocytes into polymorphonuclear leucocytes. The latter cells arrange themselves like a halo round some of the fat-cells; at other times a greater number of them make up a focus round a fat-cell. The aspects indicated would suggest a marked chemitaxis of the fat cells for polymorphonuclear leucocytes in this initial stage.

17 hours of immunisation.

Rabbit 210—Weight 1 300 grs.

Inoculated on April 7 th 1920 in marginal vein of ear with 1 cc. of a sterilised emulsion of *B. paratyphi A.* (Emulsion A).

Died during the night before 9 a. m. on April 8 th 1920.

Autopsy—The bone-marrow (femur) has a light red colour, a shining surface and a normal consitance.

Histologic Study.—Under a weak power the section shows on a background stained by eosin a more or less uniform rose colour small circular light areas, which correspond to fat-cells; the parenchyma cells are considerably redu-

ced in number (aplasia). The capillaries are enormously dilated and full of red blood corpuscles but in a discontinuous way.

Under a strong power the scarceness, resembling disappearance of the polymorphonuclear leucocytes is made evident.

The myelocytes, which are considerably less numerous than in normal bone-marrow show pronounced regressive changes; the nucleus of many is pyknotic.

Some myelocytes make up isolated groups of 3 or 4 amphophil myelocytes; these are small foci of multiplication of myelocytes. These groups are rarely seen. The regressive changes of the myelocytes are prevalent.

A relative abundance of small cells with the appearance of lymphocytes may be noticed.

Some fat-cells have their normal dimensions; almost all, however, are reduced in volume; the nucleus is swollen and its finer structure more evident than usual, being readily stained by hæmatoxylin. In the protoplasm appears a zone where the structure is clearly reticular. This zone is found immediately round the nucleus, which occupies a much more central position than in fat-cells from normal bone-marrow.

The megalocaryocytes found are the seat of pronounced regressive changes (plasma more or less intensely stained by eosin, nucleus in frank caryolysis).

Round the degenerating megalocaryocytes are found frequently cells with the appearance of lymphocytes, but not plentifully; in the protoplasm of the megalocaryocytes, remains of phagocyted cells.

In the bone-marrow of rabbit 210 which died not quite 17 hours after the commencement of immunisation, the lesions are as follows:

Lesions of the vessels: *pronounced congestion of blood spaces.*

Lesions of reticulum: *pronounced œdema.*

Lesions of parenchyma cells:

1) pronounced reduction in number of bone-marrowcells (aplasia).

2) almost entire disappearance of polymorphonuclear leucocytes.

3) pronounced regressive changes in myelocytes and megalocaryocytes.

4) reproduction of amphophil myelocytes which constitute little groups of 3-4 cells; these foci are sparse and relatively rare.

5) reduction in number of the fat-cells, which show a nucleus with the finer structural details clearer than under normal conditions. This nucleus is displaced towards the centre of the cells and the protoplasm around it has a very evident reticular structure.

6) relative abundance of cells morphologically identical to lymphocytes (diffuse infiltration of lymphocytes).

24 hours of immunisation.

Rabbit 212—Weight 1 300 grs.

Inoculated on April 7th 1920 at 3.30 p. m. in marginal vein of ear with 1 cc. of a killed emulsion of *B. paratyphi A.* (Emulsion A). Died after 9.00 a. m. on April 8 th 1920. Autopsied before 1.00 p. m.

Autopsy.— The bone-marrow is of a dark red colour; small points of a darker red may be seen in it.

Its consistence is slightly diminished. The surface is shiny.

The central vein is voluminous, turgid, looking like a cord of red colour, easily separated from the parenchyma of the bone-marrow.

Histologic Study.—Under a weak power the bone-marrow shows an evident reduction in the number of the parenchyma cells (Fig. 3, Plate 19).

The reticulum is the seat of a pronounced, generalised œdema (Fig. 4, Plate 19).

The capillaries are dilated and filled with red blood corpuscles (Fig. 3, Plate 19) between which normoblasts,

a few rare myelocytes and leucocytes may also be seen.

Under a strong power the study of the parenchyma revealed the following facts:

Great scarcety, or almost complete disappearance of the polymorphonuclear leucocytes is to be seen.

Cells with the appearance of lymphocytes are particularly abundant (Fig. 4, Plate 19); these cells appear isolated and never form groups of more than 2-3 cells.

Besides the lymphocytes, which, in certain fields appear to be the dominating element, myelocytes are to be seen.

Some myelocytes show a nucleus well-stained by haematoxylin, very often apparently two-lobed.

Some myelocytes possess two circular nuclei of unequal size; agglomerations of 4 and more cells are not rare; each cell shows, then, a two-lobed nucleus or possesses two spheric nuclei always of unequal size (forms of division of the myelocytes).

Besides the above described myelocytes other not uncommon ones show different lesions. In some, the nucleus appears frankly stained, in a diffuse way, like the shadowing of a normal nucleus (caryolysis); in others, the nucleus is reduced to a black-coloured condensed mass, or to small spheric masses (3-5) of unequal size, strongly stained (*caryorrhexis* and *pycnosis*).

The volume of almost all the fat-cells is reduced as compared with a fat-cell of normal bone-marrow (Fig. 3, Plate 68).

The nucleus occupies a very much more central position than it would in a normal fat-cell (Fig. 4, Plate 68); it is never perfectly central but always slightly excentric also more voluminous than in normal fat-cells, ovoid in shape, and poor in chromatin. It occupies a zone of protoplasm with a reticular structure. In the meshes of the reticulum, round the nucleus, are seen little vacuoles. In the peripheric part of the protoplasm the vacuoles are bigger, separated by fine septa from the reticulum.

In the immediate neighbourhood of the fat-cell a substance of uniformly rose colour is seen in preparations stained by hæmatoxylin-eosin (fluid transudate of œdema).

It is not possible to find a megalocaryocyte with a normal appearance; these cells are reduced in number and have different appearances.

In one case, the volume is approximately that of a normal megalocaryocyte. The nucleus shows the characteristic configuration. It stains, however, very little by hæmatoxylin, looking like a shadow of dark blue colour, bigger than a normal nucleus; no fine details of structure are seen, in it, the mass having on the contrary, a homogeneous and uniform appearance.

The protoplasm is made up of minute, densely grouped granulations, of uniform, size, frankly coloured rose-red by the hæmatoxylin-eosin and pale blue by GIEMSA's fluid process.

In another, aspect, the volume of the cell is enormously reduced, sometimes to one half the normal size. The megalocaryocyte has in this case the dimensions of a myelocyte (Fig. 5, Plate 19).

The nucleus appears as a condensed mass, strongly stained in very deep blue; it does not show fine structural details.

The granular protoplasm forms round the condensed nucleus a more or less narrow zone; it shows the granular structure described above.

The lesions of the bone-marrow 24 hours after the commencement of immunisation are, therefore:

1) aplasia (reduction of the number of cells).

2) relative abundance of cells with the morphology of lymphocytes which

are either found in the interior of the blood spaces or else are in the reticulum where they appear as isolated elements.

3) reduction in number, almost absence, of polymorphonuclear leucocytes.

4) regressive changes in the myelocytes, megalocaryocytes and fat-cells.

5) proliferation of myelocytes, with not infrequent disseminated foci, made up of 4 or more of these cells.

Probable interpretations.

The lesions seen in the bone-marrow of rabbits 210 and 212, which died respectively 17 and 20 hours after the beginning of immunisation, are of the same nature.

Small variations of intensity of the lesion, only, are to be seen.

Thus in rabbit 210, the œdema of the reticulum is more accentuated than in 212. In rabbit 212 the cells with the appearance of lymphocytes are still more numerous and diffusely distributed than in rabbit 210.

These lesions are probably due to the following:

The conspicuous reduction in leucocytes is to be explained, naturally by the leucocytosis observed in this phase of immunisation.

The multiplication or regeneration of the myelocytes is due to this same leucocytosis.

The congestion of the capillaries and œdema of the reticulum are directly dependant on the introduction into the circulation of the antigen (dead bacteria), certainly bringing with it toxins (endotoxins). The congestion must precede the œdema which is only the consequence of an intense and lasting congestion. We had, besides, the opportunity to see the ease with which, in various pathological conditions, the œdema of the reticulum of the bone-marrow produces itself, and which is explained by the special structure of the capillaries of the bone-marrow.

As to the regressive changes seen in the myelocytes, megalocaryocytes and fat-cells, I think that the vascular lesions (œdema and congestion), bringing with them modifications in the cellular metabolism, are in themselves sufficient explanation; it is not possible, however, to exclude even here an action of the antigen.

The explanation of the abundance of cells with the morphology of lymphocytes offers some difficulty; the same fact had already been observed by SELLING in the regeneration of bone-marrow after benzol intoxication; it is most probable that it should be a case of emigration of these cells from capillaries of the bone-marrow where they are also to be seen in the sections (Fig. 4, Plate 19).

36 hours of immunisation.

Rabbit 213—Weight 1.300 grs.

Inoculated in marginal vein of the ear with 1 cc. of a killed emulsion of *B. paratyphi A.* (Emulsion A) at 3.30 p. m. on April 7 th 1920.

Died after 9.00 a. m. on April 8 th 1920. Autopsied at 1.00 p. m. on same day.

Autopsy—The bone-marrow has a lightred colour. The consistence is diminished, the organ is easily dilacerated, leaving pieces sticking to the bone when the rest is removed. The central vessels are not very conspicuous.

Histologic Study—The lesions of the bone-marrow of rabbit 213, died at the 36th hour of immunisation, are of the same kind as those seen in rabbit 212.

The differences are:

1) The congestion is less pronounced.

2) The proliferation of myelocytes is more pronounced, figures of indirect division are frequent.

3) Cells with pigment are found in greater number.

2nd Day of immunisation.

Rabbit 214—Weight 1 300 grs.

On April 7 th 1920 at 3.30 p. m., inoculated in the

marginal vein of ear with 1 cc. of a emulsion *B. paratyphi A.* (emulsion A).

Killed on April 9 the 1920 at noon (46.30 hrs after inoculation).

Autopsy was made immediately.

Autopsy—The general colour of bone-marrow (femur) was red. The surface brilliant. The consistence normal.

Histologic Study—Sections of material fixed in ZENKER-formalin, stained by hæmatoxylin-eosin and fluid GIEMSA.

Under a weak power a pronounced congestion of the small vessels (capillaries), œdema of the reticulum and reduction in volume and number of the fat-cells.

The parenchyma appears to be poorer in cells than the normal; this is not, however, marked.

Areas of necrosis are not to be seen.

Rabbit 409—Weight 1 130 grs.

May 5 th 1921—(2.00 p. m.) Leucocytes=10 550 per mm³ (11 600—11 200—10 000—9 400).

May 6 th 1921—(1.15 p. m.) Leucocytes=12 800 per mm³ (14 800—13 400—11 800—11 200).

May 6 th 1921—At 1.45 p. m. inoculated subcutaneously with 1 loopful (2 milligramms) of a culture in gelose of *B. paratyphi A.* in suspension in saline solution and sterilised by heating in a water bath at 65°C for an hour.

May 16 th 1921—Killed, at 4 00 p. m. by violent narcosis (chloroform).

One description alone will suffice for these three rabbits, so similar are the lesions found.

The only difference is that cells with pigment are found only with difficulty in rabbits 405 and 408 whereas they are not uncommon in 409.

Histologic Study—Under a weak power the fat-cells are seen to be reduced in size and the parts of the reticulum which surround them are strongly stained by eosin. In preparations by MALLORY's process (anilin blue) these parts are uniformly coloured orange red, giving the appearance of hyaline substance, whereas the remainder of the relicum stains blue (œdema fluid).

The parenchyma cells are practically as numerous as in normal bone-marrow.

A really evident feature of this bone-marrow, which agrees with BUNTING and SELLING's descriptions of the regenerations of the bone-marrow, is the existence of myelocytes in small islets of 3, 4, 6 or 10 and more cells, side by side with other different groups of hæmoglobin-containing cells (groups in which there is regeneration of cells of the myeloid class and erythrogenetic groups).

The polymorphonuclear leucocytes are also abundant and the megalocaryocytes are well preserved.

Ocasionally discrete areas with capillary congestion are seen.

The aspect of these lesions is not uniform; in some places the œdema of the reticulum is more pronounced and the fat-cells are less voluminous; the parenchyma cells, although less numerous, show a disposition in distinct groups of cells of the myeloid series and erythrogenetic cells.

The bone-marrow of the 10th day of immunisation shows an intense regeneration of the parenchyma cells, of the cells the myeloid series as of the hæmoglobin-containing cells; the former more numerous, however, than the latter.

The congestion of the capillaries exists only in rare places and the œdema of the reticulum is already being reabsorbed; in the immediate neighbourhood of the fat-cells is found a homogeneous substance, staining itself in orange red by MALLORY's method (anilin blue) and staining strongly with eosin (hyaline substance?).

14th Day of immunisation.

Rabbit 133 A—Weight 1 750 grs.

Jan. 19 th 1920—Leucocytes=13 200 per mm³.

Jan. 20 th 1920—Leucocytes (4 00 p. m.); 6 600 per mm³. Intraperitoneal inoculation (4 20 p. m.) of 1,5 cc. of a mixture of 2 cc. of saline solution with 1 cc. of 24 hours broth culture of *B. paratyphi A.*

Jan. 21 rst 1920 – Leucocytes (2.00 p. m.)=18 800 per mm³.

Jan. 22 nd 1920 – Leucocytes (12.30 p. m.)=11 80$_0$ per mm³.

Jan. 24 rd 1920—Inoculated peritoneally (1.30 p. m.) with 3 cc. of saline solution with 2 loopfuls of a 24 hours culture on gelose of *B. paratyphi A.*

Feb. 3 rd 1920—Leucocytes (11.00 a. m.)=13 000.

Killed at 1.30 p. m.

Histological Study—Under a small power the bone-marrow is seen to be richer in cells than the normal organ. The clear spaces that correspond in the latter to fat-cells are in our case unrecognisable; in their place numerous parenchyma cells diffusedly disseminated are to be seen.

The blood-capillaries are not dilated and can be recognised without difficulty (under a weak power) between the numerous parenchyma-cells.

Under a strong power one observes that the most numerous cells are myelocytes and polymorphonuclear leucocytes; it is quite common to see foci of myelocytes and round the margins of these numerous polymorphonuclear leucocytes. Amongst these, it is easy to find megalocaryocytes, almost all of them with 1 or 2 phagocyted leucocytes in their plasma; cells of the hæmoglobin-containing series are also found.

The most remarkable fact, however, of this bone-marrow in marked hyperplasia is the existence of foci of proliferation of the reticulum cells, which form structures at first sight similar to lymphoid follicles (Fig. 17, Plate 17).

The foci are fairly conspicuous, even under a weak power, on account of the absence of granulocytes in them; they are made up of big cells with a nucleus round or oval, poor in chromatin, showing 1, to 3 nucleoli, protoplasma slightly basophil (reticulum cells); staining by anilin blue (MALLORY) shows that these do not contain any connective tissue fibrils; in certain favourable fields one sees that the protoplasm of these cells has fine, strands of protoplasm which go out towards similar ones from other cells. These cells have phagocytic activity; their protoplasm sometimes holds desintegrating granular leucocytes, round granules stained by eosin and sometimes light yellow pigment. In the foci, there occur other cells amongst these; they have a round nucleus, with abundant chromatin and a protoplasm without granulations; some have the morphology of lymphocytes.

When the focus becomes larger, the big cells occupy the central part, imitating the germ centre of a lymphoid follicle with its lymphoblasts; the non-granular mononuclear cells and and lymphocytes, becoming more numerous, occupy the marginal zone; the appearance reminds one of a lymphoid follicle (see Fig. 17, Plate 17).

The knowledge we have of the reticulum cells of hæmatopoietic organs is not yet definite. Some authorities, like DOWNEY and WEIDENREICH, admit the formation of mononuclear leucocytes and lymphocytes at the cost of the reticulum of lymphoid organs.

I do not wish to assert in a categoric way that the foci I described are lymphoid organs; that would be the subject of another research. What I should like to state clearly, is the difference between these foci, which are perhaps lymphoid follicles, and the foci of proliferation of connective tissue cells (fibrosis) which were met at every moment in this series of rabbits from the 6th day on, and that indicate small hæmorrhagic centres under way of organisation.

ASKANAZY thinks that under normal conditions the bone-marrow of children contains lymphoid follicles, which SCHRIDDE denies, assuming that this can happen only under pathological conditions. The lymphoid follicles indicated by ASKANAZY showed no germ-centres.

If in this rabbit, these should be real lymphoid follicles, which I think

very probable, this fact would have a special interest, since it would show the possibility of lymphoid follicles with a quite evident germ-centre occurring in the bone-marrow (Fig. 17, Plate 17).

In normal rabbits only occasionally did I find lymphocytes, which were always isolated. The existence of lymphoid follicles in the bone-marrow of the adult rabbit is, according to me, a pathological condition. Might not the expression of «*lymphoid metaplasia*» in this case be not altogether unsuitable.

IV—Conclusions.

It is quite common to observe histopathological lesions of the bonemarrow of apparently healthy rabbits; of these, however, the number of leucocytes is almost always abnormal. SELLING's recommendation, i. e. to observe during a period of 3 consecutive days the number of leucocytes and exclude the rabbits that, during this time show considerable daily variations or an abnormal number, proved very useful.

I carried out a histopathological study on the bone-marrow of 40 rabbits immunised for the obtention of agglutinins *(B. paratyphi A.)*

I ascertained the existence of lesions succeeding each other with great regularity; this process can be divided according to its morphological characters into the following phases:

4 hours of immunisation.

Slight congestion, inconspicuous œdema of reticulum and a modification (disorder) in the normal arrangement of the parenchyma cells which are less numerous than under ordinary conditions and above all an intense transformation of myelocytes into polymorphonuclear leucocytes. These polymorphonuclear leucocytes, dispose themselves after the fashion of a crown round some fat-cells and make up a little focus round one of them (s. Figs. 11 and 15, Plate 17). The aspects observed show a pronounced chemotaxis of the fat-cells for the polymorphonuclear leucocytes.

17 to 36 hours.

Marked congestion and pronounced œdema of reticulum (s. Fig. 3, Plate 19). Considerable reduction in the number of parenchyma cells (aplasia) (s. Figs. 3 and 4, Plate 19), with almost complete disappearance of the polymorphonuclear leucocytes. Pronounced regressive changes in the myelocytes and megalocaryocytes (Fig. 5, Plate 19). Multiplication of amphophil myelocytes, in its first stages, constituing litile foci of 3-4 discrete and rare cells.

Reduction in volume of fat-cells (v. Plate 19, Fig. 3), whose nucleus showing the fine structural details, is slightly tumefied and displaced towards the centre of the cell (v. Plate 19, Fig. 4); the protoplasm all around has a clearly reticular structure. Finally, a diffuse infiltration of leucocytes (v. Plate 19, Fig. 4).

2nd Day.

There is persistance of the congestion, œdema of reticulum, and diffuse infiltration of leucocytes, also regeneration of the polymorphonuclear leucocytes and perhaps a slight excess of them. Reconstitution of the fat-contents of the fat-cells.

3rd Day.

The resorption of the œdema of the reticulum begins. The congestion of capillaries persists (Plate 21, Fig. 9). The parenchyma cells, as abundant as in the normal state, are chiefly myelocytes, disposed in small foci of 2, 4 or more cells (Plate 20, Fig, 6) and polymorphonuclear leucocytes. There begin to appear foci of regeneration of the hæmo-

globin cells (perivascular foci of erythroblasts (normoblasts) (v. Plate 21, Fig. 11).

The reconstitution of the fat-contents of the fat-cells continues (v. Plate 21, Figs. 9, 10 and 11). The lymphocytes become rarer, the character of a diffuse infiltration which they showed disappears; megalocaryocytes in pronounced phagocytic activity. Discrete hyperplasia of the fixed connective tissue cells (fibrosis) (v. Plate 20, Fig. 8).

5th, 6th and 7th Days.

The congestion of the capillaries shows a tendency to disappear and the œdema of the reticulum is becoming reabsorbed. Hyperplasia or intense proliferation of myelocytes, grouped round the vessels in a conspicuous manner (Plate 22, Fig. 13 and Plate 17, Fig. 16); active evolution of myelocytes into polymorphonuclear leucocytes, with individual variations with regard to the numerical predominance of one kind of cell over the other. Fat-cells reduced in volume; some of them, however, have already reacquired their original dimensions (Plate 22, Fig. 12); others are hidden by the myelocytes in hyperplasia (v. Plate 17, Fig. 16). Numerous small foci of fibrosis (proliferation of connective tissue cells) probably representing the organisation of small hæmorrhagic foci (v. Plate 20, Fig. 7).

7th Day.

Capillary congestion only in a few points, œdema of reticulum has already undergone resorption; round the fat-cells there has deposited itself a substance with the caracters of hyaline substance. Parenchyma with an active regeneration of cells, not only of the more numerous cells of the myeloid series, but also of the hæmoglobin-containing elements.

14th Day.

Bone-marrow in marked hyperplasia, the most numerous cells being myelocytes and polymorphonuclear leucocytes. Owing to the hyperplasia of the cells of the myeloid series, the fat-cells are not conspicuous. A specially interesting fact is the existence of foci with the structure of lymphoid follicles and possessing a germ-centre (v. Plate 17, Fig. 17). Megalocaryocytes with pronounced phagocytic activity.

Condensing the facts, we may say that in the course of immunisation for the obtention of agglutinins, the bone-marrow undergoes, right in the first hours, a marked reduction in the number of its cells, with intense congestion and œdema of reticulum and regressive alterations in the parenchyma-cells. A remarkable fact is the subsequent loss of the fat-contents of fat-cells, preceded by the disposition of polymorphonuclear leucocytes round them like a crown. The reduction in volume of the fat-cells appears to be frequent in different pathological states of the bone-marrow, but the chemotaxis of polymorphonuclear leucocytes for the fat-cell had not yet been described and only subsequent research wil show whether it is a lesion peculiar to bone-marrow or not.

After this initial period, there is gradual regeneration of the different cells; before this the bone-marrow is the seat of an infiltration by cells with all the characters of blood-lymphocytes; this invasion precedes the phase of regeneration of the myelocytes and cells of the hæmoglobin-containing series and this curious observations might be of great theoretic importance.

The fat-contents of fat-cells are gradually rebuilt.

Later on, on the 6th day of immunisation, the most noticeable histologic alteration is an intense hyperplasia of the parenchyma-cells; mitotic figures of di-

vision of the myelocytes are to be seen in great abundance. This hyperplasia becomes marked on the 10th and 14th days; the fat-cells are then hidden by the parenchyma-cells. At the same time there is a regeneration, on a smaller scale of the cells of the hæmoglobin containing series. At this time, a fact of general interest is the appearance of formations morphologically similar to lymphoid follicles with a germ-centre.

It is interesting to compare the curve of agglutinin-production with the lesions in the bone-marrow. This curve attains its maximum on the 6th 8th days of immunisation (TSUKAHARA), coinciding thus with a marked hyperplasia of the cells of the myeloid series and with the regeneration of the fat-contents of the fat-cells of the bone-marrow.

Doubtlessly the lesions I observed are closely connected with the well-known modifications of the blood in immunisation.

I think that the action of the antigen, leucocytosis and the production of antibodies are facts closely connected among themselves and that all of them concur towards producing the lesions of the bone-marrow seen during immunisation.

This is not a gratuitous supposition since HEKTOEN's experiments have shown the «leucocytogenic-centres» to take part in the elaboration of antibodies and TISCORNIA, employing a special technic isolated from the leucocytes of immunised animals substances with immunising properties.

Taking into account recent immunologic research and experiments with physical agents such as X-rays, radium and thorium X, all of which tend to point out the bone-marrow as seat of production of some antibodies (agglutinins), we may conclude that the morphological descriptions submitted in this work confirm this point of view.

Explanation of Figures.

Figs. 1 to 13, Plates 18 to 22, are microphotographs of microscopc sections of rabbit bone-marrow stained with hæmatoxylin-eosin.

Figs. 14 and 15, Plate 17, are drawings from microscopic sections of bone-marrow stained with hæmatoxylin-eosin and drawn with ZEISS' Comp. Oc. 4 and Homog. Imm. Obj. 1/12; Fig. 16 is drawn with ZEISS' Oc. 2 and Homog. Imm. 1/12. Fig. 17, Plate 17, is drawn from a section of bone-marrow stained by GIEMSA's fluid process and examined with ZEISS' Comp. Oc. 6 ZEISS Obj. DD.

Plate 17.

Fig. 1 — Bone-marrow at the 4th hour of immunisation (rabbit 369).

Leucocytes placed round fat-cells like a halo (chemotaxis of the fat-cell for leucocytes).

Fig. 2 — Bone-marrow at the 4th hour of immunisation (rabbit 369).

Leucocytes grouped round fat-cell are more numerous than in Fig. 14, and cover the fat-cells.

Fig. 3 — Bone-marrow at the end of the 7th day of immunisation (rabbit 218), showing an active proliferation of myelocytes.

Observe the predomination of this kind of cell over the other parenchyma-cells and its grouping round the blood-vessels. Capillaries dilated, slightly less so than in the first days of immunisation. Some fat-cells are approximatively normally-sized *(a);* others are hidden by groups of myelocytes giving at first sight the impression that they had been invaded by myelocytes *(b.)*

Fig. 4 — Bone-marrow at the end of the 14th day of immunisation (rabbit 133-A).

Cell-focus that must be identified with a lymphoid follicle with its germ-centre.

The central part (germ-centre) is occupied by big cells of a basophil cytoplasm, oval nucleus with little chromatin and with 1—2 nucleoli *(reticulum-cells).*

Peripherically there are numerous cells with the morphology of lymphocytes, among which are to be observed also cells of the marrow-parenchyma (myelocytes and leucocytes).

In these cell-foci erythroblasts are not seen.

Plate 18.

Fig. 1 — Normal rabbit bone-marrow (seen under a weak power).

The clear spaces correspond to fat-cells; between the latter are arranged the parenchyma-cells. Blood-vessels are not in evidence.

Fig. 2 — Normal rabbit bone-marrow (seen under a strong power).

Plate 19.

Fig. 3—Bone-marrow after 24 hours of immunisation (rabbit 212).

Pronounced congestion and œdema of reticulum (as compared with with Fig. 1, Plate 18). Reduction in number of parenchyma-cells (aplasia). Fat-cells reduced in volume.

Fig. 4 — Bone-marrow after 24 hours of immunisation (rabbit 212).

(To be contrasted with Fig. 2, Plate 18).

Reduction in number of parenchyma-cells (aplasia). Abundance of cells with the morphology of lymphocytes. Congestion and œdema of reticulum. Lesions of fat-cells (cf. text).

Fig. 5—Bone-marrow after 24 hours of immunisation (rabbit 212).

Megalocaryocytes with regressive changes (cf. text).

Plate 20.

Fig. 8—Bone-marrow at the end the 3rd day of immunisation (rabbit 215).

Intense proliferation of myelocytes, forming small groups of 3 or 4 cells. Diffuse infiltration of lymphocytes. Complete disappearance of fat-contents of fat-cells.

Fig. 9 — Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 216.)

Foci of polymorphonuclear leucocytes; many of them superposed on one point show a pyknotic nucleus and other ones are in complete desintegration (a small infarct).

Fig. 10—Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 216).

Increase in number of fixed connective tissue cells which which are seen 10-15 at a time placed side by side and in rows.

Plate 21.

Fig. 9 — Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 150).

Marked congestion (compare with Fig, 1, Plate 18). Parenchyma-cells, although less numerous than in normal marrow, are more numerous than in the first 24 hours of immunisation. (compare with Fig. 3, Plate 19).

Fig. 10—Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 150).

Foci of regeneration of hæmoglobin-containing elements [perivascular foci of erythroblasts (normoblasts)].

Fig. 11 — The same section as in figure 9 seen under a higher power.

The most abundant parenchyma-cells are myelocytes.

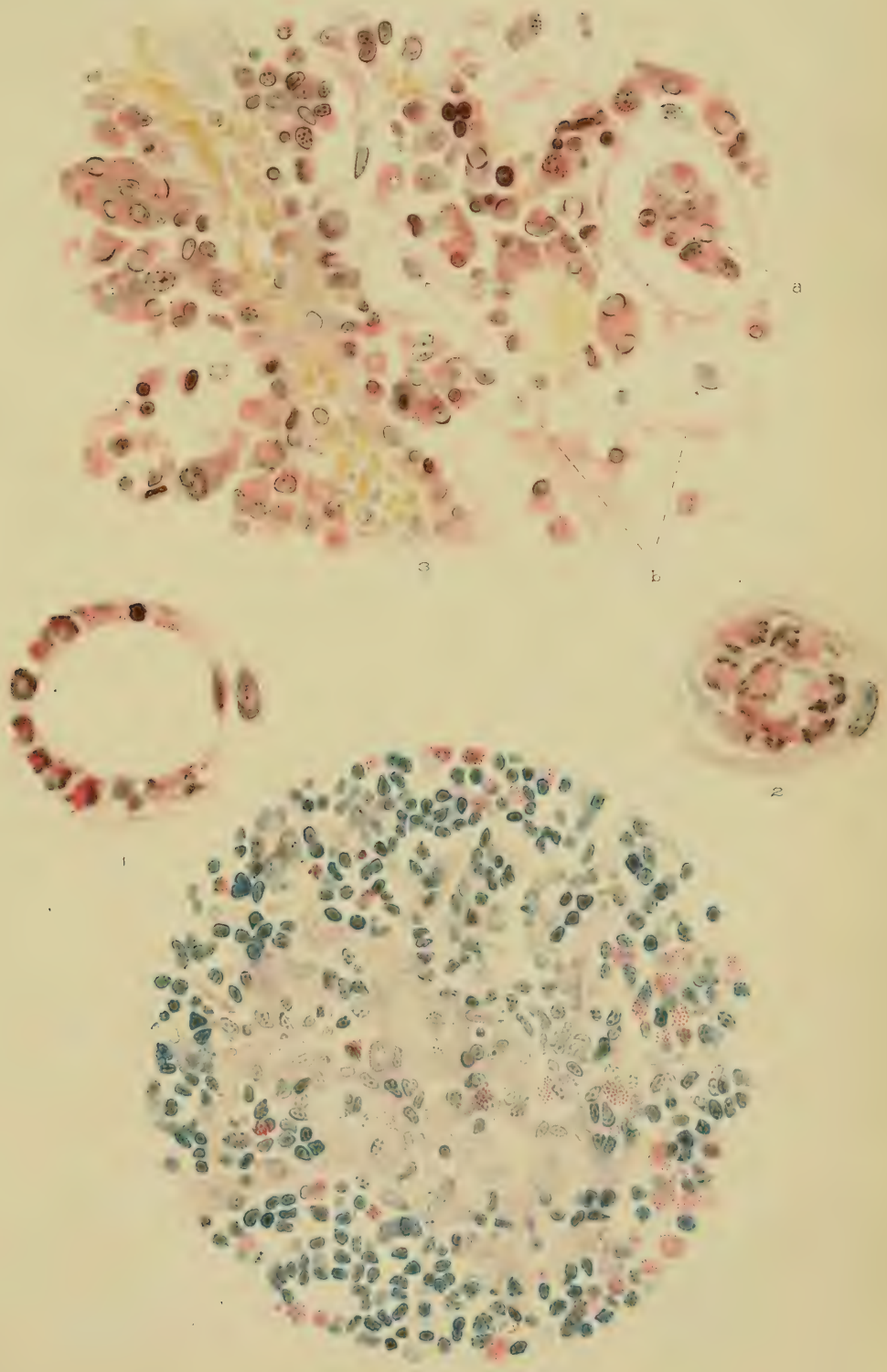
Plate 22.

Fig. 12 — Bone-marrow at the end of the 5th day of immunisation (rabbit 367).

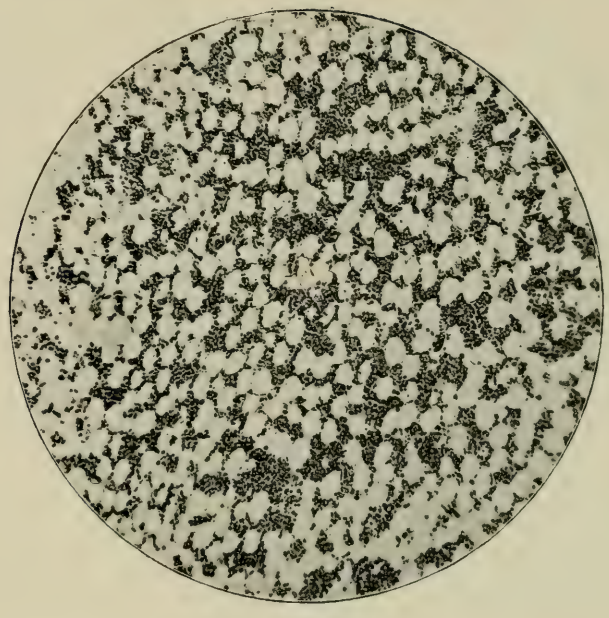
Hyperplasia of parenchyma-cells, of which the most numerous are polymorphonuclear leucocytes. In the fat-cells can be observed regeneration of fat-contents. Oedema of reticulum largely reabsorbed.

Fig. 13 — Bone-marrow at the end of the 7th day of immunisation (rabbit 218).

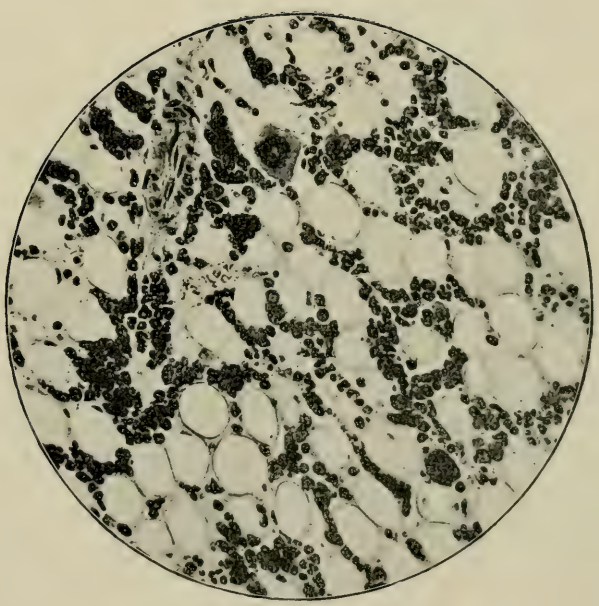
Pronounced congestion and grouping of parenchyma-cells round blood-vessels.



L. Kattenbach, del.

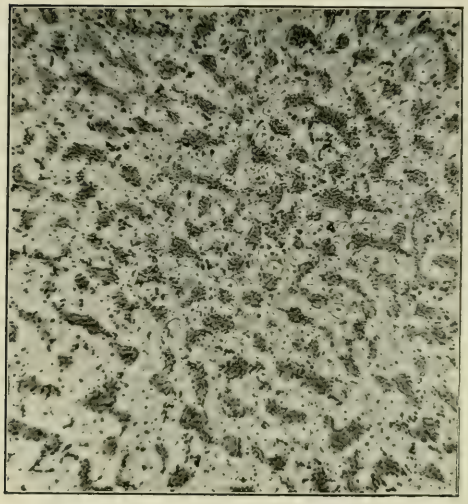


1



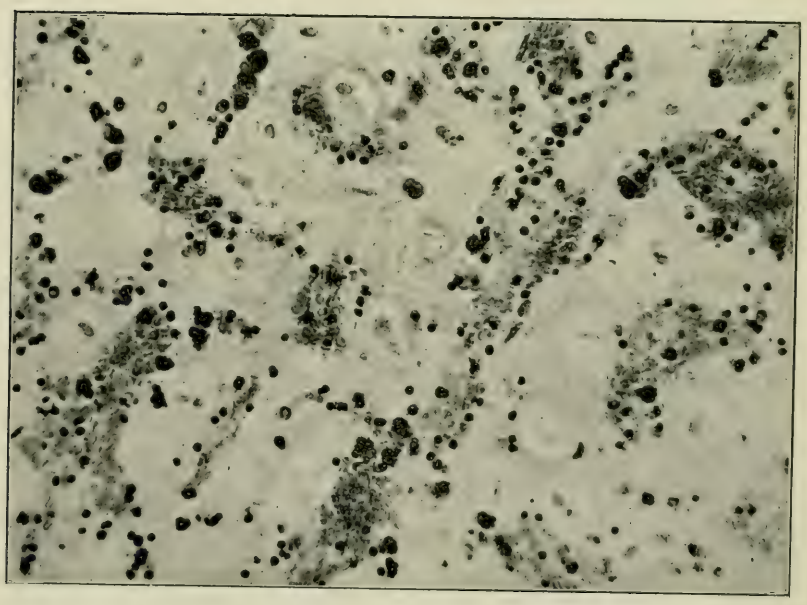
2

J. PINTO, phot.

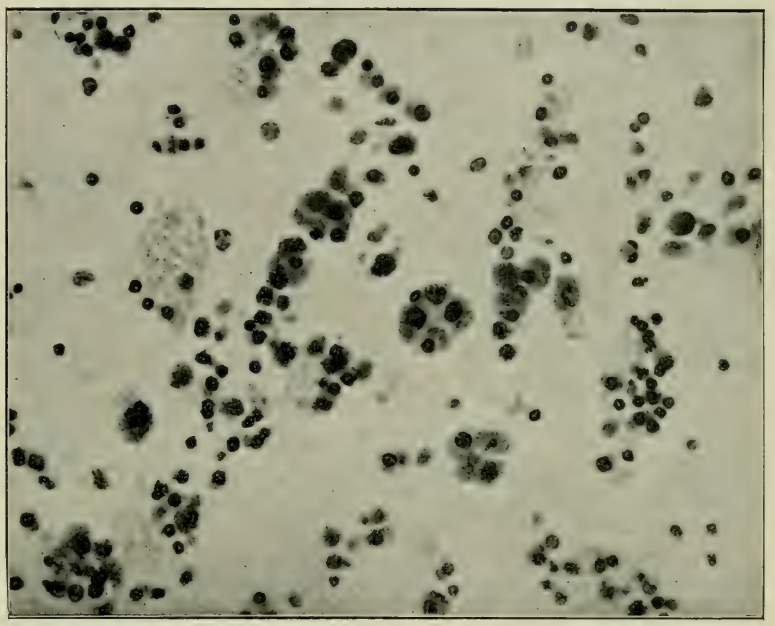


3

5

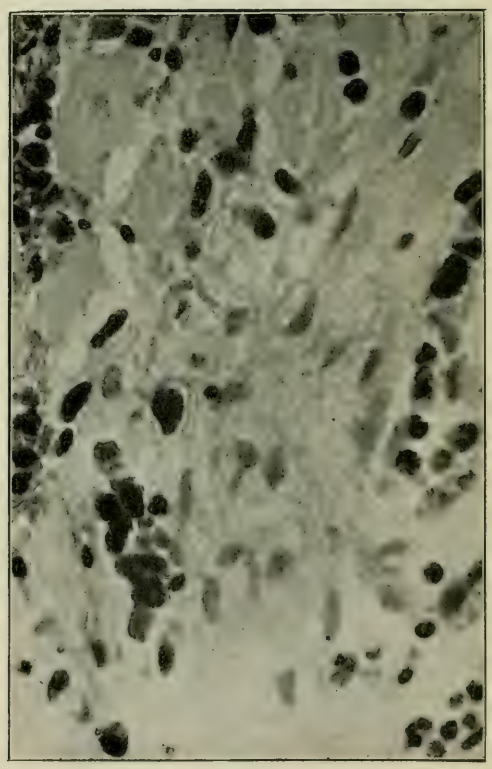


4

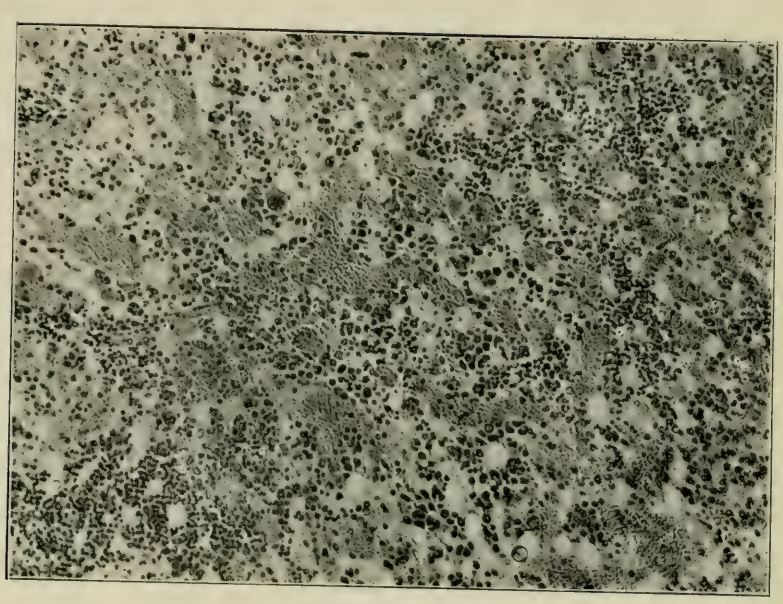


8

9

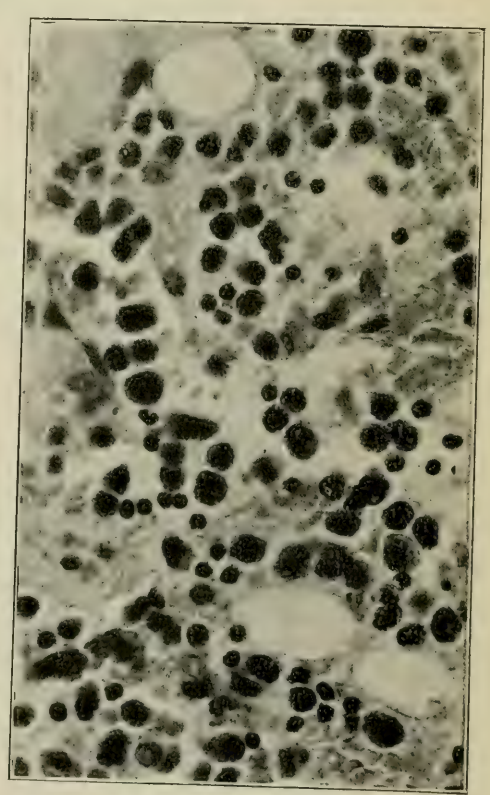


10

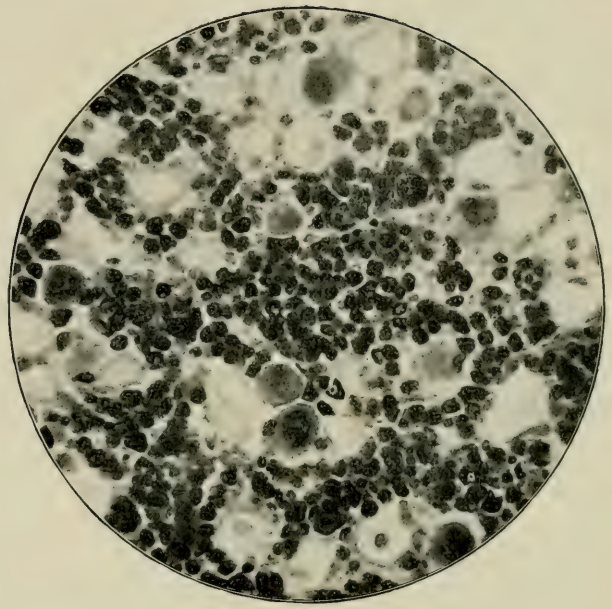


9

10



11



12

13

On the loss of acid-fastness and granular disaggregation in Bacillus tuberculosis of old cultures

by

DR. A. FONTES.

Head of Department.

The observation of cultures of B. tuberculosis in liquid culture media shows that, as the cultures get older, the microbes deposit themselves at the bottom of the flask in which the culture has been carried out.

Seen under the microscope these microbes appear altered, looking more granular than in cultures under favourable conditions of development; numerous free granulations permit one to suppose that there is a microbic autolysis in the culture medium.

This phenomenon, which is constant allows of different interpretations:

1º) — Are the bodies of microbes affected by cadaveric autolysis?

2º) — Are the bodies of microbes affected by ferments elaborated in vivo by the microbes?

3º) — Are the bodies of microbes affected by a chemical non fermentative action of substances that had been produced by the virus?

4º) — Does the chemical composition of culture medium exert a manifest action on this phenomenon of pseudo-autolysis?

5º)—Are the morphological changes and the consequent granular disaggregation connected with the conditions of vitality of the virus?

1º) — Cadaveric autolysis is a general phenomenon which, considered as a consequence of the fermentative action intimately connected with the physical state of organised living matter, has been studied isolated from external factors which might be looked upon as its cause.

The aseptic autolysis of organs has shown that the ferments of the living, as well as of the dead body, reproduce within the cell the dynamic aspects of matter produced by bio-chemical energy.

In the case of bacterian elements, however, observation tends to show that in the absence of foreign causes the phenomenon of autolysis is exceedingly slow.

The observation of cultures left in the incubator or even under ordinary conditions and *kept uncontaminated* shows that, although altered in form, sometimes even to the extent of becoming

unrecognisable, the germs still take anilin dyes; this indicates that the disaggregation of organised matter, if begun at all, was not completed.

What is observed in a general way with the ordinary run of bacteria is still more evident in the case of KOCH's bacillus.

The cultures on solid media of B. tuberculosis, even when died out in the course of time, show under microscopic observation the greater part of the microbes intact, sometimes with forms of involution, more granular than in prospering colonies, but always individually recognisable, Side by side with these, free granulations are found in much greater numbers than in developing cultures.

In ancient cultures in liquid media the granular disaggregation and the alteration of the germs are still more noticeable.

This cannot, however, be considered to be a complete lysis of the microbian body since the cultures are always recognisable by their shape even cultures of more than two years of age.

Alteration in the form of the bacilli and a setting-free of the granulations may be verified but the dilution and disappearance of the proteic substances which make up the body of the granulation cannot be observed in a positive way.

Long experience allows me to conclude that «*in the absence of foreign causes intervening the granulations of the Bacillus tuberculosis are not dissolved by cadaveric autolysis*».

2o—The research for ferments elaborated by cultures of B. tuberculosis have been almost entirely fruitless.

BAUDRAN (1) ascertained the existence of an anaeroxydasis, the existence of which could be revealed by guaiac solution operating with absolute alcohol on live bacilli.

CARRIÈRE (2) found a lipasis similar to or identical with the lipasis studied by HENRIOT and recognisable by its decomposition of monobutyrin.

The researches which I carried out in 1911 [FONTES (3)] using the technic of MALFITENO (4) were entirely negative as to the existence of proteolytic ferments, zymases or oxydases.

And, in reality, experiments agree with what is observed in aged cultures. If the ageing of the cultures renders the granulations more abundant this observation supports the view that there are no ferments to digest them. Nor can the disaggregation of the granulations or the modification of the bacilli in cultures be admitted as the action of the lipasis found by CARRIÈRE.

The production of lipasis being a vital act, the ferment should exert its action in vivo, and in that case the germs would not keep their morphological integrity in the lesions.

Now, it is known that only the action of a specific cellular lipasis is able to modify the morphology of the bacillus [FONTES (5)] [FIESSINGER and MARIE (6)].

Another argument is drawn from the following fact. In the most flourishing period of development of the culture the acme of vitality is represented, in culture broths, by the greatest richess in products elaborated by the germs, and yet at this time the bacillary bodies show a good constitution and dispersed granulations are relatively scaree.

«*The contrary should take place if this disaggregation depended on a ferment elaborated by the microbe*».

3o—The third hypothesis in a measure casts light on the phenomenon in question.

The chemical composition of the tubercle bacillus indicates an abundance of higher alcohols, non-saturated fatty acids and several phosphatides.

In vitro, cleaving and even lytic ac-

tion of some of these substances can be demonstrated.

Cholesterin, lecithin and the quaternary ammoniacal bases are substances, which, when under special conditions mixed with cultures of B. tuberculosis exert a dissolving influence on the bodies of the microbes.

The observations of DEYCKE and MUCH (7) on this subject have been unanimously confirmed by posterior research. Thus in tuberculosis cultures the freeing of these principles which do diffuse, although slowly, in liquid media, would permit of the dissolving of the microbian lipoids and a consequent dispersing of the granules. It is, in fact, a general property of lipoids to dissol each other mutually [IVAR BANG (8)].

The phosphatides have this property accentuated and the non-saturated fatty acids as well as their soluble soaps are very active.

Although the actual tendency is rather to approach these reactions to the reactions of soluble ferments, we should rather consider them as chemical non-fermentative saponification or hydrolysis reactions since they are accelerated by a raising of the temperature incompatible with fermentative activity.

Is is what one must conclude from the action of ox-bile and of several of the lipoids from cod-liver oil which exert a disaggregating and somewhat lytic influence on tubercle bacilli at temperatures of approximately 100°C.

Therefore «*the chemical composition of the tubercle bacillis, its richness in higher alcohols, fats and phosphatides and the diffusion of these lipoids in the culture media explain the morphologic modification of the bacilli and the freeing of the granulations quite independently of any fermentative activity.*

4°—Tubercle cultures depelop on culture media of the most different origin and most varied chemical composition.

Media of animal origin, vegetable media or even media of definite chemical composition permit the development of cultures in which the bacilli keep their principal characters: acid-fastness and granular structure.

This does not mean that modification in form and structure of the bacilli may not be obtained when the chemical composition of the culture medium alters the biological conditions of the germ, as happens in media with considerable quantities of glycerin or those to which lipoids of different origins have been added. But in these cases the cultures which develop, considerably modified in their biological conditions cannot be considered normal.But even so, in some of them, as in homogenous cultures when the perturbing cause ceases to act on the normal development of the culture, it returns to the original type revealing the microbes with their specific characters.

In homogeneous cultures the abandoning of the cultures and the ceasing of daily shaking allows of the formation of a skin composed of bacilli which reacquire their acid-fastness and granular structure.

The change in reaction of the culture medium, which, in cultures of the bovine type, is, according to the observations of TH. SMITH (9), correlated with the term of development of the culture, does not exert any appreciable action on the phenomenon studied, since week old cultures in full maturity and having suffered twice an inversion of the chemical reaction of the medium show the microbes in perfect state of structural integrity.

Thus «*when a tubercle culture in placed under normal conditions of development neither the chemical composition of the culture medium nor a modification of the reaction appear to exert an influence in the production of a modification in the morphology of the ba-*

cillus and in the disaggregation of the granules».

5º—From the study of cultures of tubercle bacilli in artificial culture media it is very difficult to conclude wheter the modification in the morphology of the bacilli and the granular disaggregation depend exclusively on the conditions of vitality of the virus.

And, in fact, even in the homogeneous cultures, in which the greatest modifications in form and virulence of the tubercle bacillus are seen, the development of the culture is made easier by successive transplanting. Yet under normal conditions of development in artificial media, the ageing of cultures causes the appearance of a greater number of modified forms than is found in vigourous colonies.

And, what should be remarked is that however great the age, provided the culture remain alive, even if there should be a certain attenuation of the virus, it does not lose its infective power.

From the observation of tuberculous infection, however, it is clear that the morphological variation of the virus obey, to a certain extent, the resistance of the organism in which it develops.

In chronic pulmonary tuberculosis the granular form is more frequently observed than in cases of acute and sub-acute evolution and this is more easily verified in old cases of cavitary tuberculosis.

The finding of the granular form in cases of lupus, the variety of acid-fast forms in these lesions, are facts that agree in indicating a certain connection between cause and effect: they allow one to presume that the granular form is the form of resistance of the virus representing its residual infective form.

Acid fastness is a character acquired with the cycle of evolution of the germ. In recent as in old cultures this character may fail without their ceasing, for this reason, to be infectious.

Granulations are always found in these cultures. If, by any chance, in recent cultures the granulations should have a less condensed structur this appears to be connected with the bacillary reproduction and production of smaller granulations deriving from the others.

The study of the bacillus' cytology shows that the granulation has an essential function in reproduction. [FONTES (1)]. Now the granulation being the origin of the bacillary body, its being eliminated from the body of the microbe to form new centers of development of cultures, its not being destroyed by the ordinary causes of destruction appearing in culture media, such as exhaustion of the medium, action of ferments elaborated by the culture, modification of physico-chemical conditions of culture medium, one may logically admit that *«the increasing and freeing of the granulations of bacilli in aged cultures represents the effort of resistance the virus opposes to the causes that interfere with its vitality».*

Studien ueber Meeresprotozoen

von

Drs. Gomes de Faria, A. M. da Cunha und Cesar Pinto,

(Taf. 23–25.)

Einleitung.

Die erste Arbeit ueber Suesswasser-Protozoen Brasiliens ist 1841 erschienen, und wir verdanken sie EHRENBERG, der die drei folgenden Arten aufgestellt hat: *Centropyxis aculeata*, *Euglypha alveolata* e *Trinema enchelys*.

DADAY beschrieb 1905 zwei neue Arten von Suesswasser-Protozoen, aus dem Staat Matto Grosso.

1910 studierte S. VON PROWAZEK einundneunzig Arten, die in der Naehe des Instituts Oswaldo Cruz (Manguinhos) und in einigen Orten des Staates S. Paulo zu finden waren.

1909 bis 1910 haben ARAGÃO, HARTMANN und CHAGAS neue Arten beschrieben, und die Cytologie von Suesswasser-Rhizopoden und von Flagellaten aus Rio de Janeiro studiert.

Im Jahre 1912 wurden von WAILES achtunddreissig freilebende Protozoen festgestellt.

1913 klassifizierte A. M. DA CUNHA zweihundertundzwanzig Arten, von denen zwoelf noch nicht beschrieben waren.

GOMES DE FARIA, CUNHA und O. DA FONSECA haben Meerwasser-Protozoen aus der Bucht von Rio de Janeiro und aus dem Atlantischen Ozean bis zur Muendung des Rio de la Plata studiert, und es gelang ihnen, neue Arten fuer den suedamerikanischen Plankton aufzustellen.

Die vorliegende Arbeit wurde mit dem Material aus dem Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro und der Umgebung der Ilha Grande ausgefuehrt.

Die studierten Protozoen wurden vorgefunden bei direkter Untersuchung des Meerwassers, oder sie entwickelten sich, wenn dieses in Kristallisatoren im Laboratorium aufbewahrt wurde. Die Protozoen des Plankton, die in unserer vorigen Arbeit schon bezeichnet wurden, behandeln wir hier nicht wieder.

Klasse: *Sarcodina* HERTW et LESSER.

Unterklasse: *Rhizopoda* VON SIEBOLD.

Ordnung: *Amoebina* EHRENBERG.

Familie *Paramoebidae* DOFLEIN.

1. Paramoeba schaudinni nov., sp.

(Taf. 23, Fig. 1 bis 11.)

In einem unserer kleinen Meerwasser-Aquarien, das zahlreiche Flagellaten enthielt, fanden wir, als deren Zahl anfing abzunehmen, eine *Paramoeba*, die wir als unbekannte Art beschrieben.

Dieser Rhizopode wurde auf dem Nachrboten, den wir beschreiben werden, leicht kultiviert und die Kultur hielt sich monatelang. Der gebrauchte Nachrboden bestand aus einer Infusion von Kohlblaettern in filtriertem Meerwasser, welchem 0,5% steriliziertes Agar hinzugefuegt wurde; dann wurde er in Drygalski-Platten verteilt, wo die Kulturen gemacht wurden.

Die Beobachtung der *Paramoeba* wurde in frischen Praeparaten vorgenommen, und an solchen, die mit Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN fixiert und nach der klassischen Methode HEIDENHAIN's gefaerbt waren.

Lebend (Taf. 23, Fig. 1). stellt der Rhizopode eine sehr veraenderliche Form vor. Man kann leicht ein durchsichtiges und lichtbrechendes Ektoplasma und ein koerniges, mit Vakuolen versehenes Endoplasma unterscheiden. Im Ruhezustand bildet das Ektoplasma um das Endoplasma herum eine Schicht von ungefaehr gleicher Dicke; in der Bewegung dagegen bildet das Ektoplasma hauptsaechlich die Pseudopodien und bleibt bei den uebrigen Koerperteilen auf eine sehr kleine Zone beschraenkt.

Die Vakuolen des Endoplasmas sind von verschiedener Groesse und unregelmaessiger Anordnung, und es ist unmoeglich hier zwei Zonen zu unterscheiden wie bei der *Paramoeba eilhardi* SCH., wo es in der Mitte eine Zone von grossen Vakuolen und eine peripherische Zone von kleinen Vakuolen gibt.

Es ist noch keine kontraktile Vakuole beobachtet worden, wie es auch mit der *Paramoeba eilhardi* SCH. geschieht, und was gewoehnlich bei Meeresprotozoen der Fall ist.

Die Pseudopodien bilden sich langsam und unregelmaessig an irgend einer Stelle der Aussenflaeche des Koerpers; ihre Form und ihr Aussehen ist auch sehr verschieden: bald sind sie kurz und das Tier zeigt euterfoermige Vorspruenge bald sind sie lang, fingerfoermig, mit Verlaengerungen, die manchmal so gross sind wie der Rest des Koerpers und die dem Rhizopode die Form eines unregelmaessigen „Sternes geben.

Der Kern, der selbst waehrend des Lebens des *Paramoeba* zu sehen ist,. liegt im Endoplasma, meistens nahe der Mitte des Protozoens (Tafel. 23, Fig. 1). Er hat die Form eines hellen, runden Blaeschens von etwa drei bis vier Mikra Durchmesser, in dessen Mitte sich ein ebenfalls rundes Karyosom befindet, das den groessten Teil des Kernes ausfuellt.

Neben disem sieht man ein Gebilde, fuer das wir den Namen *Nebenkern* vorschlagen, (*Nebenkoerper* nach SCHAUDINN), das in frischen Praeparaten die Form eines lichtbrechenden Koerperchens darstellt und von einem hellen Hofe umgeben ist (Taf. 23, Fig. 1).

In Praeparaten gefaerbt mit Eisen-Hematoxilin nach HEIDENHAIN, wird die Unterscheidung zwischen Endo- und Ektoplasma weniger deutlich; immerhin ist der Unterschied bei einigen Exemplaren bemerkenswert (Taf. 24, Fig. 2).

Die Struktur des Plasmas gleicht der, die wir beim lebendigen Tier beschrieben haben; sie ist aber mehr ausgepraegt.

Der Kern zeigt ein grosses rundes Karyosom, das den groessten Teil von ihm einnimmt. Um dieses herum gibt es einen hellen Hof, welcher die Kernsaftzone bildet und der das Karyosom von der Kernhaut trennt.

Oft kann man Lininfaeden beobachten, die von dem Karyosom ausgehen,

and an der Peripherie des Kernes enden (Taf. 24, Fig. 2 und 3).

Der Nebenkern *(Nebenkörper)* hat die Form einer laenglichen Ellipse, befindet sich neben dem Hauptkern, und kann zweierlei Aussehen haben. In einigen Exemplaren besitzt er einen Mittelteil in Form eines Querstreifes, der durch das Eisen-Hematoxilin stark gefaerbt ist. Auf beiden Seiten dieses Mittelteils befinden sich zwei schwach gefaerbte Kugelabschnitte, in denen ein stark gefaerbtes Koernchen (Centrosom) zu sehen ist, die oft mittels eines Fadens (Centrodesmose) verbunden sind, der den mittleren Teil durchschneidet.

In einigen Exemplaren bemerkten wir, statt eines Koernchens zwei auf jeder Seite, die durch zwei Faeden mit gegenueberliegenden Koernchen verbunden sind (Taf. 25, Fig. 3). In anderen Faellen stellt der Nebenkern einen groesseren mittleren achromatischen Teil und einen chromatischen dar, der sich in beiden Polen des Nebenkernes befindet, in Form von zwei Baendern (Taf. 23 und 24, Figs. 6, 7, 8).

In diesen Faellen werden keine Koernchen beobachtet. Wir glauben, dass dieses Gebilde von der Art der Teilung des Nebenkernes abhaengt.

Die Vermehrung des Protozoons findet durch Zweiteilung statt, und es war unmoeglich, irgend eine andere Vermehrungsart unzweifelhaft zu beobachten. Die Teilung des Kernes und des Nebenkernes geht stets der des Plasmas voran, wie es die Figuren 6 und 7 der Tafel 25 zeigen, wo man ungeteilte Exemplare dieses Rhizopoden beobachtet, die zwei Kerne und zwei Nebenkerne tragen.

Die Teilung des Kernes und des Nebenkernes geschieht fast stets gleichzeitig; allerdings haben wir Exemplare beobachtet, wie das auf der Taf. 25, Fig. 8 befindliche, bei denen ein einziger Kern und zwei Nebenkerne vorhanden waren, was die fruehzeitige Teilung dieses Organs beweist. Die Teilung des Kernes, ebenso wie die des Nebenkernes wird unabhaengig volzogen.

Es gelang uns nur zwei Stadien der Kernteilung zu beobachten. In dem einen, das auf der Figur. 4, Taf. 25, abgebildet ist, sieht man eine Aequatorialplatte, die aus ungefaehr acht koernchenförmigen Chromosomen besteht. Diese Platte befindet sich in einem hellen Raum, ohne dass man das Vorhandensein einer Spindel beobachten koennte. In einem anderen Exemplar (Taf. 25, 5) sieht man deutlich eine achromatische Spindel mit Centriolen an den Polen. Das Chromatin verteilt sich auf zwei Polarplatten, von denen jede aus etwa 8 Chromosomen besteht, welche die Form von Koernchen haben.

Ueber die Art der Teilung des Nebenkerns haben wir sehr wenig beobachten koennen. Er teilt sich meistens gleichzeitig und unabhaengig von dem Kerne; er kann sich in manchen Faellen vor dem Kerne teilen, wie schon oben erwaehnt ist. Das Gegenteil, das heisst, die Teilung des Kernes vor der des Nebenkernes ist nie beobachtet worden. In den Exemplaren, bei denen wir Teilungsphasen des Kernes beobachtet haben, erscheint der Nebenkern laenglich, und besitzt an beiden Enden eine Reihe von chromophilen Koernchen durch ein achromatisches Gebilde von fasiger Struktur verknuepft, das an eine Spindel erinnert (Taf. 24, Fig. 4 und 5).

In den Kulturen der *Paramoeba schaudinni* fanden wir haeufig neben grossen Exemplaren, wie den oben beschriebenen, auch andere, mit aehnlicher Morphologie, aber viel kleiner (Taf. 25, Fig. 9).

Waehrend der Durchmesser der grossen Individuen mehr als 15 Mikra betraegt, haben dagegen die kleinen nur 6 bis 7 Mikra Durchmesser. Diese kleinen Exemplare ordnen sich meist in Gruppen (Taf. 25, Fig. 9) und scheinen aus der starken Vermehrung des Rhizopoden zu entstehen. Dafuer spricht das Aussehen

des Nebenkernes, der stets mit chromatischen Polarplatten versehen ist, eine Erscheinung, welche, wie wir schon sahen, von der Teilung dieses Organs abzuhaengen scheint.

Es ist uns nicht gelungen, die Natur dieser Formen aufzuklaeren, ob es sich um Gameten handelt, oder um Individuen, die dazu bestimmt sind, sich in Geisselformen zu verwandeln.

Einmal haben wir ein Individuum beobachtet (Taf. 25, Fig. 10), auf dem man ein Gebilde sah, das an die Verschmelzung zweier Kerne oder eines Kernes mit einem Nebenkern erinnerte.

Es ist uns allerdings unmoeglich gewesen, andere Stadien zu beobachten, welche die Erklaerung dieser Erscheinung als einen Karyogamieprozess bestaetigen koennten.

In Kulturen, wo die kleinen Formen von *Paramoeba* zahlreich waren, haben wir oft ein grosses Individuum bemerkt, das in seinem Innern eine oder mehrere kleine Formen trug, die 3 Mikra lang waren, und 4 Mikra Durchmesser hatten, das heisst, die kleinsten bisher beobachteten Formen.

In der Figur 2, der Tafel 25 stellen wir ein dieser Exemplare vor, welches Kern und Nebenkern besitzt, und das in ihrem Innern vier kleine *Paramoeba* aufweist.

Unserer Meinung nach, kann diese Erscheinung nur auf zweierlei Weise erklaert werden: entweder bilden sich die kleinen *Paramoebae* auf Kosten der grossen, in deren Innern sie sich befinden, durch innere Knospung, oder sie werden von den grossen verschlungen, aus Mangel an geeigneter Nahrung (Kanibalismus). Die *Paramoebae* sind in der Tat sehr gefraessig, und man findet oft in ihrem Innern kleine Flagellaten, wenn diese in den Kulturen vorhanden sind. Fuer diese letzte Ansicht spricht die Tatsache, dass man im Innern der grossen *Paramoebae* eine schwankende Zahl kleinerer antrifft, und auch, dass man, wie es von uns einmal beobachtet worden ist, neben kleinen *Paramoebae* auch ein Individuum, der Art *Gymnodinium* findet, welches manchmal, in der Kulturen des Rhizopoden erschien.

Obwohl wir diesem Punkte besondere Aufmerksamkeit widmeten, ist es uns bei unseren Untersuchungen niemals gelungen Geisselformen zu beobachten, die als eine Phase des Entwicklungskreises des Rhizopoden haette betrachtet werden koennen. Zuweilen erschienen Flagellaten in den Kulturen, aber bei der Beobachtung hat sich nie ein Nebenkern gezeigt, was erlauben wuerde, sie als Entwicklungsstadien von *Paramoebae* zu betrachten.

Wir haben auch keine Einkapslungsformen dieses Rhizopoden beobachtet.

Ueber die von dem Nebenkern im Leben der Prootozoen erfuellte Funktion, war es unmoeglich, neue Tatsachen festzustellen, welche die bisher dunkle Rolle dieses interessanten Organs haetten erklaeren koennen.

SCHAUDINN betrachtet den Nebenkern (Nebenkoerper) als gleich bedeutend mit dem Centrosom, der bei der Teilung der Geisselform der *Paramoeba eilhardi* SCH. die Rolle von Bewegungsorgan ausuebt. CHATTON verteidigt eine aehnliche Meinung.

JANICKI, der ausfuehrlich zwei Arten von *Paramoebae*, (*P. pigmentifera* GRASSI und *P. chaetognathi* GRASSI)) studiert hat, die als Parasiten von Chaetognaten gefunden werden, betrachtet den Nebenkern, den er *nucleus secundus* nennt, als einen zweiten, vielleicht durch einen Degenerationsprozess veraenderten Kern. Fuer JANICKI bildet der mittlere Teil des Nebenkernes (Mittelstueck), der, nach seinen Forschungen, eine eigene Membran besitzt, fuer sich allein einen Kern; die Seitenteile sind ihn Kugelabschnitte von Archoplasma, die in ihrem Innern die Centrosome tragen.

In unseren Untersuchungen haben

wir keine Tatsache festgestellt, die uns erlaubt haette, den Nebenkern als Centrosom zu betrachten, und wir glauben eher, dass dieses Organ einen zweiten Kern darstellt, wie es JANICKI meint, in dauerndem Teilungszustand; wir bezweifeln nur den Degenerationscharakter, den JANICKI den Veraenderungen des Nebenkernes zuschreibt.

Es gibt bisher nur eine einzige Art von freilebenden *Paramoebae*, welche die typische Art der Gattung ist *(Paramoeba eilhardi* SCH.), und die, wie die unsrige, im Meerwasser lebt.

Die hier studierte Art ist von der von SCHAUDINN beschiebenen dadurch verschieden, dass sie einen Kern hat, dessen sehr grosses Karyosom fast das gesamte Chromatin des Kernes in sich fasst, waehrend in der *Paramoeba eilhardi* dieses stark entwickelt und von unzaehligen Koernchen in der Kernsaftzone vertreten ist.

Unsere Art erreicht ausserdem, nie die hoechsten Masse, die SCHAUDINN fuer die *Paramoeba eilhardi* angibt, und in dem Endoplasma findet man nicht die beiden Zonen, die durch die Groesse der Vakuolen unterschieden werden.

Klasse: *Mastigophora* DIESING.
Unterklasse: *Flagellata* CLAUS.
Ordnung: *Rhizomastigina* BUETSCHLI.

Familie: *Ciliophryidae* POCHE, 1913. FARIA, CUNHA *et* PINTO *em.* 1922.

Syn.: *Helioflagellidae* DOFLEIN, 1916. *In* Lehrb. der Protoz. 1916, S. 711-712.

POCHE stellte im JAHRE 1913, diese Familie auf, die er unter die Heliozoarien einschloss, und die fuer ihn nur die Gattung *Ciliophrys* CINK. aufweist.

1916 vereinigte DOFLEIN die Gattungen *Dimorpha* GRUBER, *Ciliophrys* CINK, *Actinomonas* KENT und *Pteridomonas* PENARD zu einer Familie, die er *Helioflagellidae* DOFLEIN 1916 nannte.

Wir glauben, DOFLEIN hat Recht, die oben genannten Gattungen in eine einzige Familie einzuschliessen; nur die von DOFLEIN angewandte Benennung *Helioflagellidae* besteht nicht zurecht, da sie von keinem Namen einer Flagellatengattung abgeleitet worden ist. Darum haben wir die Bezeichnung *Ciliophryidae* gewaehlt, die POCHE vorschlug, und die aus der aeltesten Gattung der Familie herstammt, und wir geben ihr eine erweiterte Diagnose als die von POCHE, so dass wir in diese alle von DOFLEIN bezeichneten Gattungen einschliessen koennen.

Wir bleiben dabei, diese Familie zu den Fagellaten zu rechnen und nicht zu den Heliozoarien, wie es POCHE und DOFLEIN taten, obwohl wir keine neue Kenntnisse erworben haben, um entgueltig die Frage ihrer systematischen Stellung zu loesen.

Diagnose: Rhizomastigien, die Pseudopodien besitzen, welche strahlenfoermig verteilt sind, mit oder ohne Achsenfaeden und mit Koernchenketten versehen.

Typische Gattung: *Ciliophrys* CIENKOWSKI, 1876.

Diagnose: Flagellaten, die zwei Entwicklungsphasen haben: die der Heliozoarien, geissellos, ohne deutlichen Unterschied zwischen Ekto- und Endoplasma, mit feinen, starren, strahlenfoermigen Pseudopodien, welche die gewoehnlichen Koernchenketten der Heliozoen zeigen, und die mit kontraktilen Vakuolen versehen sind; die zweite Phase, oder Geisselform, hat keine Pseudopodien und besitzt am Vorderteil eine Geissel.

Kern bei beiden Formen mit Central-Karyosom und einer ringfoermigen, peripharischen Chromatinzone.

Die Vermehrung findet waehrend des Heliozoarienstadiums durch Zweiteilung statt.

Es hat tierische Ernaehrung und ist *oligo-* und *meso-saprobium*.

2. Ciliophrys marina CAULLERY, 1909.

Beschreibung: Zellen im Heliozoenstadium kugelfoermig und unregelmaessig, ohne deutlichen Unterschied zwischen Endo- und Ectoplasma; das letztere traegt in seiner aeussersten Zone zahlreiche Ernaehrungsvakuolen. Das Plasma weist auch zahllose kleine, lichtbrechende, farblose Koerperchen auf.

Der Kern hat ein mittelstaendiges Karyosom und eine peripherische Chromatinzone, die zuweilen sternfoermig oder nach dem Plasma hin strahlenfoermig ist.

Eine Ausscheidungsvakuole ist vorhanden. Von der Oberflaeche des Koerpers gehen nach allen Rhichtungen zahlreiche, starre und feine Pseudopodien aus, die Koernchenketten zeigen, und die keine Achsenfaeden besitzen. Die Groesse des Kernes schwankt zwischen sieben und zehn Mikra.

Im Flagellatenstadium sind die Zellen eifoermig mit zugespitztem Hinterteil; das Vorderteil ist mit einer Geissel versehen, die ein wenig laenger ist als der Koerper. Der Kern hat dieselbe eben beschriebene Struktur, und liegt am Vorderteil nahe der Geisselbasis.

Dieses Protozoen ist etwas selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, und erscheint in groesserer Fuelle, wenn das Wasser in Kristallisatoren aufbewahrt wird.

Ordnung: *Protomonadina* (BLOCHMANN, 1895) HART. *emend.*

3. Monas guttula EHRENBERG, 1830.

Diese Art wurde im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gefunden, das im Laboratorium aufbewahrt worden war.

4. Pseudobodo tremulans GRIESSMANN.

In geringer Zahl im Meereswasser der Bucht von Rio de Janeiro vorhanden.

Cruzella nov, gen,

Diagnose: Freilebende Protomonadine, die eine vordere und eine hintere Geissel aufweist, die beide von je einem Basalkoerperchen ausgehen. Einkerniges Protozoon.

5. Cruzella marina nov., sp.
(Taf. 24, Fig. 12—14).

Protozoon, das eine mannigfaltige Koerperform zeigt. Der Koerper ist spindel- oder eifoermig, und wenig abgeplattet und metabolisch.

Das Hinterende ist mehr oder weniger zugespitzt, zuweilen abgerundet, und das Vorderende ist gekruemmt und bildet eine Verlaengerung in Form eines Ruessels.

Die Oberflaeche des Koerpers ist von feinem Perisplast bedeckt, das metaboliche Bewegungen erlaubt.

Das Plasma hat eine feine Wabenstruktur, die in fixierten Praeparaten deutlich ist. Am Hinterteil des Koerpers bemerkt man gewoehnlich winzig kleine Vakuolen, die Nahrungspartikeln (manchmal schwarze) enthalten; der Vorderteil ist stets durchsichtiger und nur selten mit Vakuolen versehen.

Weder kontraktile Vakuole noch Nahrungsaufnahme wurden festgestellt.

Die *Cruzella marina* ist mit einer vorderen und einer hinteren Geissel versehen. Die vordere ist kuerzer und geht vom Vorderende des Ruessels aus; die hintere faengt unter der Basis des Ruessels, und an der konkaven Seite an.

Ihre vordere Geissel hat die ungefaehre Laenge des Koerpers; die hintere ist fast doppelt so lang als das Protozoon.

Der Kern liegt ungefaehr in dem mittleren Teil des Koerpers oder ein

wenig nach vorn; er ist voller Blaeschen und besitzit ein grosses Karyosom, meistens sehr dick, in dessen Innern nur selten das Centriol gesehen werden kann, das in der Centralzone liegt.

In der Kernsaftzone gibt es kein peripherisches Chromatin. Die Kernmembran ist vorhanden, aber wenig deutlich. Es war unmoeglich, den Kernteilungsprozess dieses Protozoons in allen seinen Phasen zu verfolgen; allerdings haben wir in unseren Praeparaten einige Phasen dieser Teilung beobachtet, die wir in den Figuren 13 und 14 der Tafel 25, darstellen.

In der Fig. 13 sieht man eine der Teilungsphasen, in der eine Spindel mit zwei Polarplatten sichtbar, und in der die Kernmembran noch nicht verschwunden ist. Der Geisselapparat bleibt in diesem Kernteilungsstadium ohne Zeichen von Teilung.

In der Fig. 14 bleiben die beiden Tochterkerne, die schon vollstaendig ausgebildet sind, noch durch Centrodesmosen verbunden. In diesem Stadium (Fig. 14) besteht der Geisselapparat aus vier Geisseln, die von vier Basalkoerperchen ausgehen, und von denen je zwei durch Rhizoplasten verbunden sind. Jedem Paare von Basalkoerperchen entspricht eine vordere und eine ruecklaeufige Geissel.

Das Protozoon zeigt nun einen Anfang von Plasmateilung, und nimmt eine Form an, die von der vegetativen Form verschieden ist.

Vorkommen: Sie lebt im Meerwasser.

Gattung: Colponema STEIN, 1873.

Diagnose: Nackter Koerper, nicht metabolisch, eifoermig oder in Form eines regelmaessig abgeplatteten S (BUETSCHLI).

Die ventrale Seite ist mit einer tiefen Furche versehen, deren Raender in Schlangenlinien verlaufen, und die am Vorder- und Hinterende des Koerpers breiter wird. Es gibt zwei Geisseln, eine vordere und eine hintere, die laenger ist; beide sind am Vorderende der Furche eingefuegt.

Sie besitzt eine oder zwei kontraktile Vakuolen am Vorder oder Mittelteil des Koerpers.

Die Ernaehrung und die Vermehrung sind unbekannt. Wir haben die Diagnose der fraglichen Gattung, so wie sie von BUETSCHLI, KLEBS und anderen gegeben wurde, leicht abgeaendert, um zu ihr die untere Art mitrechnen zu koennen, welche alle wichtigsten Kennzeichen dieser Gattung hat, aber in der ganzen Form, von der typischen Art verschieden ist.

6. Colponema globosum nov. sp.

(Taf. 24, Fig. 15).

Ihr Koerper ist von sehr breiter Eiform, fast ein stark abgeplatteter Kreis; das Vorderende ist ein wenig schmaler als das Hinterende. Die ventrale Furche ist tief, breit, mit abgerundeten, hervorragenden Raendern, die sich im Mittelteil verengen, um an den beiden Enden breiter zu werden, hauptsaechlich an dem hinteren.

Masse: 15 Mikra Laenge zu 13 bis 14 Breite.

Die Geisseln sind an dem vorderen Fuenftel des Koerpers eingefuegt, in der Hoehe der ventralen Furche. Die vordere Geissel ist kuerzer als der Koerper und die hintere doppelt so lang als dieser.

Grosse kontraktile Vakuole in der vorderen Haelfte des Koerpers.

Das Plasma enthaelt kleine, stark lichtbrechende Koerperchen.

Es ist uns unmoeglich gewesen, diesen Flagellaten in gefaerbten Praeparaten zu beobachten, um seine Cytologie, und hauptsaechlich die Einfuegung der Geisseln zu studieren, um ueber seine systematische Stellung entscheiden zu koennen, und nur vorlaeufig haben wir ihn unter die Protomonadinen eingeschlossen.

Vorkommen: Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro beobachtet.

7. Rhinchomonas nasuta.

Ordnung: *Binucleata* HART.

8. Eutreptiella marina CUNHA, 1913.
(Taf. 24, Fig. 16).

Oft und manchmal in Mengen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gesehen.

9. Calycomonas gracillis LEHMANN.

Selten im Nanoplankton gesehen.

10. Anisonema grande.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro angetroffen.

11. Pleotia vitrea.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

12. Marsupiogaster picta, nov. sp.
(Taf. 25, Fig. 17).

Ihr Koerper ist von oben nach unten abgeplattet, breiter am Mittelteil, und wird an den beiden Enden allmaehlich schmaler. Das Vorderende ist breiter und abgerundet, und das hintere duenner, und endet nicht in scharfe Spitze. Die Membran zeigt feine, spiralfoermige Streifen, die in der Laengsrichtung verlaufen. Der Koerper des Protozoons hat eine gleichfoermige Orangefarbe, die nicht von dem Vorhandensein von Chromatophoren abhaengt, sondern scheinbar auf der Durchdraengung des Plasmas mit einer gefaerbten Substanz beruht. Das Plasma besitzt grosse, kugelige, mehr oder weniger regelmaessige Koernchen (Fig. 17), die hauptsaechlich am Hinterteil des Protozoons liegen. Am Vorderteil sieht man den Mund in Form einer eifoermigen Oeffnung, die sich in einer sackfoermigen Aushoehlung fortsetzt; vom Grunde dieser Aushoehlung gehen zwei dicke Geisseln von ungleicher Laenge aus. Die groessere von ihnen ist ungefaehr dreimal so gross wie der Koerper, nach vorn gerichtet, und endet in feiner Spitze. Die andere ist kleiner als der Koerper, nach hinten gerichtet, und endet wie die vorige.

Vorkommen: Sie lebt in Meerwasserkulturen, wo sie selten erscheint. Bucht von Rio de Janeiro.

Ordnung: *Chromomonadina.*

13. Wysotzkia sp.
(Taf. 25, Fig. 18).

Wir haben im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro eine *Wysetzkia* gefunden, die wir aus Mangel an Literatur nicht haben bestimmen koennen.

Ordnung: *Phytomonadina.*

14. Carteria sp.

Im Nanoplankon der Bucht von Rio de Janeiro haben wir haeufig eine *Carteria* gefunden, die der in einer Arbeit von LOHMANN beschriebenen sehr aehnelt. Wir haben ausserdem noch Formen gefunden, wie die der Figur 19, deren Hinterende spitz auslaeuft, was den einzigen Unterschied zwischen ihr und der vorigen Form bildet.

15. Carteria minima (DANGEARD, 1888) DILL.
(Taf. 25, Fig. 20 und 21).

Diese *Carteria* hat 10 *Mikra* Laenge zu 7 *Mikra* Breite. In der Figur 21 geben wir eine Teilungsform, die der von DANGEARD aehnlich ist.

Ordnung: *Peridinea.*

Wir behandeln in dieser Arbeit nur die Arten, die in dem Plankton noch nicht beobachtet sind und welche in der Arbeit ueber das Plankton der Bucht von Rio de Janeiro erwaehnt sind.

16. Exuviella lima (EHRB., 1895) BUTSCHLI emend.

Diese Art ist im Meerwasser der

Bucht von Rio de Janeiro festgestellt worden.

17. Exuviella sp.
(Taf. 25, Fig. 22 und 23).

Masse:
Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gefunden.

18. Prorocentrum sp.
(Taf. 25, Fig. 24).

Masse:
Ist manchmal in Mengen vorhanden, und bildet dann eintoeniges Plankton. Lebt im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

19. Oxyrrhis marina DUJARDIN.

20. Oxyrrhis phaeocysticola SCHERFF.

Diese beiden Arten sind im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro beobachtet worden.

21. Spirodinium spirale (BERGH, 1881) SCHUTT emend.

Erschien manchmal in Fuellen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, das im Laboratorium aufbewahrt wurde. Bucht von Rio de Janeiro.

Klasse: *Infusoria* O. F. MUELLER.
Unterklasse: *Ciliata* O. PERTY.
Ordnung: *Holotricha* STEIN.

22. Chaenea teres DUJARDIN, 1841.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, selten.

23. Lagynus laevis QUENN., 1867.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, beobachtet.

24. Trachelocerca phoenicopterus COHN, 1865.

Erscheint haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro. Sie ist auch in der Nache der Ilha Grande festgestellt worden.

25. Didimum balbianii BUTSCHLI, 1887-89.

Einmal in verhaeltnissmaessiger Menge im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefunden.

26. Mesodinium pulex CLAP., et LACH., 1858-61.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, angetroffen.

27. Mesodinium acarus STEIN, 1862.

Suesswasserform, die manchmal im Meerwasser der Bucht von Rioo de Janeiro, beobachtet worden ist.

28. Lionotus cygnus O. F. MULLER, 1786.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gesehen.

29. Lionotus fasciola O. F. MULLER, 1786.

Suesswasserform, die manchmal im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gesehen wurde.

30. Loxophylum setigerum QUENN., 1867.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, festgestellt.

31. Chlamidodon mnemosyne EHRB., 1838.

Verhaeltnissmaessig haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro und in der Naehe der Ilha Grande, beobachtet.

32. Aegytia oliva Cl., et LACH., 1858.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gesehen.

33. Trochilia sygmoides DUJ., 1841.
(Taf. 25, Fig. Fig. 27—32).

Obwohl diese Art haeufig im Meerwasser vorkommt, ist sie bis jetzt wenig bekannt. HAMBURGER und BUDDENBROCK geben in den «Ciliaten des nordischen Planktons» eine sehr kurze Beschreibung dieses Ciliaten und bringen Zeichnungen von DUJARDIN, CLAPARADE und LACHMANN.

BUDDENBROCK hat neuerdings diesa Art wieder beschrieben und gezeichnet, und nennt sie *Ervilia sigmoides* DUJ.

Obwohl die Beschreibung BUDDENBROCK's in vielen Punkten zuverlaessig ist, ist sie doch in anderen unzulaenglich; darum halten wir es, nach dem, was uns zu beobachten gelang, fuer richtig, diese Art in unserer Arbeit wieder zu beschreiben.

Wir glauben auch, dass die Benennung *Ervilia sigmoides* mit der BUDDENBROCK diese Art bezeichnet, nicht den Vorzug verdienen kann, da dieses Ciliat die typische Art der Gattung *Trochilia* ist.

Der Koerper ist mehr oder weniger eifoermig, ungefaehr 20 *Mikra* lang und 12 *Mikra* breit; sein Vorderende ist nach rechts gekruemmt. Er ist von oben nach unten abgeplattet, die ventrale Seite ist flach, und die dorsale konvex, und mit einer Reihe (etwa sechs) von leicht gebogenen Vorspruengen versehen, die in der Laengsrichtung verlaufen. Die Cilien sind nur an der ventralen Seite vorhanden, und bilden vier laengslaufende Linien, die von der Basis der Schwanzverlaengerung ausgehen, und mit dem linken und vorderen Rande des Ciliatenkoerpers in geringer Entfernung parallel laufen, und die an dem Vereinigungspunkt des vorderen und rechten Randes enden.

Ausser diesen gibt es noch zwei kleine, parallele Linien von Cilien, die von dem vorderen, rechten Ende ausgehen, und nach hinten und links laufen, um in der Naehe der Mundoeffnung zu enden. Diese ist eifoermig, und setzt sich nach hinten und nach links in einer langen, kegelfoermigen Speiseroehre fort, die keine Staebchen hat. Am Hinterende gibt es eine dornfoermige Schwanzverlaengerung, welche gegliedert und beweglich ist. Es gibt zwei kontraktile Vakuolen, die in der Mittellinie, dicht unter der dorsalen Seite liegen. Der Kern ist elliptisch, und liegt in dem Mittelteil des Koerpers, etwas nacher dem rechten Rande.

In nach HEIDENHAINN gefaerbten Praeparaten sieht man, dass der Kern aus einem chromophilen Teil besteht, der haeufig kleine, staerker gefaerbte Chromatinkoernchen aufweist (Taf. 25, Fig. 29, 31 und 32), und aus einem Teil, der sich schwach und einfoermig faerbt. In den meisten Faellen liegt der chromophile Teil an einem der Enden, waehrend das andere durch den achromatischen Teil ausgefuellt wird (Taf. 25, Fig. 29). In einigen Faellen liegt der stark gefaerbte Teil in der Mitte des Kernes in Form eines Bandes (Taf. 25, Fig. 30).

Der Mikronukleus liegt neben dem Makronukleus an einem der Enden (Taf. 25, Fig. 29). Die Anfangsphase der Kernteilung (Taf. 25, Fig. 30). scheint aus einem mittelstaendigen, stark gefaerbten Band zu bestehen; in einer fortgeschrittenen Teilungsphase teilt sich dieses Band in zwei, die sich vollstaendig trennen (Taf. 25, Fig. 31). In der letzten Teilungsphase sieht man die Abschnuerung des Kernes (Taf. 25, Fig. 32) und jeder, durch Teilung erstandene Kern besitzt einen am Ende liegenden Mikronucleus (Taf. 25, Fig. 32).

Der Koerper des Ciliaten weist auch Plasmateilung auf mit den zugehoerigen Einfuegungslinien der Cilien (Taf. 25, Fig. 32).

Vorkommen: In Mengen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefungen.

34. Dysteria monostylla EHRG., 1838.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, und in der Nahe der Ilha Grande, gefunden.

35. Dysteria compressa GOURT et ROESER, 1888.

(Taf. 25, Fig. 26).

Bei unseren Forschungen haben wir eine Art von *Dysteria* gefunden, die sich der *Dysteria compressa* von GOURET und ROESER sehr nachert, und wir glauben uns nicht zu irren, wenn wir sie fuer die von diesen Verfassern beschriebene halten.

Der Koerper ist 45 *Mikra* lang und 28 breit, in Form eines Vierecks, von oben nach unten abgeflacht, und weist am Hinterende, in der Nahe des rechten Randes, eine kleine spitzige Verlaengerung auf. Das Protoplasma ist koernig.

Die Cilien bilden Laengslinien neben dem linken und vorderen Rand. Sie sind fein und lang in der Nahe der Schwanzverlaengerung; es gibt aber einige, die laenger und dicker sind.

Die Schwanzverlaengerung ist dreieckig, ein wenig gekruemmt. und liegt am linken Rande, nahe dem Hinterende des Ciliaten.

Der Mund ist eifoermig, und liegt nahe dem Vereinigungspunkte des linken und vorderen Koerperrandes; er setzt sich nach hinten und nach rechts durch eine lange, kegelfoermige Speiseroehre fort, die sich bis zur Nahe des Hinterendes verlaengert.

Der Kern ist laenglich-eifoermig, und liegt schraeg im Mittelteil des Koerpers. Es gibt zwei oder drei kontraktile Vakuolen, die nahe am linken Koerperrande liegen.

Vorkommen: Selten im Meerawsser der Bucht von Rio de Janeiro.

36. Dysteria brasiliensis nov., sp.

(Taf. 25, Fig. 25).

Ihre Laenge betraegt ungefaehr 150 *Mikra* und ihre Breite etwa 60 *Mikra*.

Der Koerper ist von oben nach unter abgeplattet, ungefaehr dreieckig, und sein Vorderende ist breiter als das Hinterende. Der rechte Rand ist fast geradlinig, der vordere ein wenig schraeg und konvex; der rechte ist konvex, und endet am Hinterteil in einer nach links gekruemmten Spitze. Das Protoplasma ist durchsichtig und besitzt grosse Vakuolen. Die Cilien sind auf ein Band beschraenkt, das ungefaehr ein Drittel der Koerperbreite einnimmt, und bilden Linien aus langen, feinen Faeden, die mit dem linken und vorderen Koerperrand parallel laufen. Nahe dem Hinterende gibt es eine kleine Schwanzverlaengerung in Form eines Dreiecks. Der Mund ist eifoermig, liegt in der Nahe des Vereinigungspunktes des linkes Randes mit dem vorderen und verlaengert sich in eine verhaeltnismaessig kleine Speiseroehre, die bis zur Mitte des Koerpers geht.

Die Speiseroehre ist eine kegelfoermige Roehre, die in dem Vereinigungspunkte des vorderen Drittels mit dem mittleren eine Einschnuerung traegt. In dem Munde gibt es noch eine undulierende Membran, die bei anderen Arten nicht boebachtet worden ist.

Der Kern ist zylindrisch, mit abgestumpften Enden und liegt nahe und parallel dem rechten Rande.

Es gibt zwei kontraktile Vakuolen, die in der Naehe des linken Randes vor und hinten dem Kerne liegen.

Vorkommen: Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, selten gefunden.

37. Ciclidium glaucoma O. F. MULLER, 1786.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, vorhanden.

38. Pleuronema crysalis EHRBG., 1838.

Selten im Meerwasser der Bucht

von Rio de Janeiro und in der Naehe der Ilha Grande beobachtet.

39. Lembus pusillus QUENN., 1869.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefunden.

40. Lembus infusionum COLK.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, beobachtet.

41. Plagiopyla nasuta STEIN, 1860.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Protocruzia nov. gen.

1866 beschrieb COHN unter den Namen *Colpoda pigerrima* COHN, einen im Meerwasseraquarium gefundenen Ciliaten.

HAMBURGER und BUDDENBROCK (Nordisches Plankton, Ciliata S. 64) rechnen diesen Ciliaten zu der Gattung *Blepharostoma* SCHEW., 1893.

Bei unseren Untersuchungen haben wir die Gelegenheit gehabt, im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro einen Ciliaten zu beobachten, der die Kennzeichen der von COHN beschriebenen Form besass. Wir glauben, dieser Ciliat kann weder in der Gattung *Colpoda*, noch in der Gattung *Blepharos* oder in irgend einer anderen bekannten Gattung Platz finden; darum haben wir eine neue Gattung geschaffen, die wir *Protocruzia* (1) nennen.

Diagnose: Ciliat mit abgeplattetem Koerper mit langen, feinen Cilien versehen, die in Laengslinien angeordnet sind. Das Peristom hat die Form einer Furche, geht von dem Vorderende bis ungefaehr zur Mitte des Koerpers, und weist an seinem Rande eine Reihe von laengeren und dichteren Cilien auf als die, welche den Koerper bekleiden.

(1) Zur Gedaechtnis an OSWALDO CRUZ.

Es gibt eine eizige kontraktile Vakuole, die am Vorderende des Koerpers liegt.

42. Protocruzia pegerrima (COHN, 1866. NOBIS, 1922.

Synonym: *Colpoda pigerrima* COHN, 1866:

Blepharostoma pigerrima (COHN, 1866) SCHW.
(Taf, 25, Fig, 33),

Hat die Kennzeichen der Gattung.

Masse: Etwa 20 *Mikra* Laenge zu 10 *Mikra* Breite.

Vorkommen: Ist verhaeltnismaessig haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gefunden, das im Laboratorium aufbewahrt wurde.

43. Blepharisma clarissima ANIGST.,

Im Meerwasser der Naehe der Ilha Grande, beobachtet.

44. Spirostomum lanceolatum GRUBER, 1884.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

45. Condylostoma patens (O. F. M., 1786).

Ist selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

46. Stentor polymorphus (O. F. M., 1786.)

Ist selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

47. Strombidium tipicum RAY LANK., 1874.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro zu sehen.

48. Strombidium shlcatum CALP., et LACH., 1858-61.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Ordnung: HYPOTRICHA STEIN.

49. Peristomus emmoe STEIN, 1862.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

50. Amphista crassa CL. et LACH., 1858.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro beobachtet, das im Laboratorium aufbewahrt wurde.

51. Amphista diademata REES, 1884.

Ist haeufig gesehen worden im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro das im Laboratorium aufbewahrt wurde.

52. Stichochaeta pediculiformis COHN, 1866.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

53. Actinotricha saltans COHN, 1866.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

54. Euplotes charen (O. F. M., 1786).

55. Euplotes harpa STEIN, 1859.

Diese beiden Arten sind in Mengen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro vorhanden, und vermehren sich stark, wenn sie im Laboratorium aufbewahrt werden.

56. Diophrys appendiculatus (STEIN,

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

57. Uronychia transfuga (O. F. M., 1777).

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

58. Aspidisca lynceus (O. F. M., 1786.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, vorhanden.

Ordnung: *Peritricha* STEIN.

59. Linophora auerbachi (COHN, 1866.)

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefunden.

60. Zoothamnium elegans D'UDEKEM, 1864.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Unterklasse: SUCTORIA CLAP., te LACHM.

61. Acineta tuberosa EHRB., 1838.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Erklaerung der Tafeln. 23—25.

Fig. 1—*Paramoeba schaudinni nov. sp.* im frischen Zustande beobachtet. Der Kern und der Nebenkern (Nebenkoerper) sind sichtbar; grosse Vakuolen im Endoplasma. Groesse des Rhizopodem: 15 *Mikra* zu 12.

Fig. 2—*Paramoeba schaudinni* nach HEIDENHAIN gefaerbt. Der Kern ist in Ruhezustand und der Nebenkern in Teilung. Masse: 22 *Mikra* Laenge zu 10 *Mikra* Breite; Kern: 3,5 *Mikra;* Karyosom 2,5 und Nebenkern 4 zu 2 *Mikra.*

Fig. 3—Nebenkernteilung der *Paramoeba schaudinni.* Masse: 17 *Mikra* zu 12,5; Kern 4,5 und Nebenkern 3 *Mikra.*

Fig. 4—*Paramoeba schaudinni* in Kernteilung; Aequatorialplatte. Masse: 17 *Mikra* zu 14.

Fig. 5—Kernteilung des Rhizopoden; Spindel mit zwei Polarplatten. Nebenkern in Teilung. Laenge: 15 *Mikra.*

Fig. 6—Zwei Kerne im Ruhezustand und zwei Nebenkerne bei der Teilung.

Fig. 7—Dasselbe ein wenig auseinander.

Fig. 8—Ein Kern im Ruhezustand, und zwei Nebenkerne. Fruehteilung der Nebenkerne. Laenge: 10 *Mikra.*

Fig. 9—Kleine Formen der *P. schaudinni* mit 6 bis 7,5 *Mikra* Durchmesser. In allen diesen Exemplaren sieht man den Kern im Ruhezustand und den Nebenkern bei der Teilung.

Fig. 10—Karyogamie (?) oder Degeneration (?) der *P. schaudinni nov. sp.*

Fig. 11—*Paramoeba schaudinni* die vier kleine Exemplare derselben Art in ihrem Innern enthaelt. *Innere Knospung* oder *Kanibalismus?*

Das grosse Exemplar ist 17,5 *Mikra* lang, bei 12 *Mikra* Durchmesser.

Fig. 12—*Cruzella marina nov. gen. et nov. sp.* Pflanzliche Form des Fagellaten; gefaerbt nach HEIDENHAIN.

Fig. 13—Kernteilung der *Cruzella marina* in heidenhainscher Faerbung.

Fig. 14—*Cruzella marina.* Kernteilung in Telophase, Basalkoerperchen, die schon geteilt sind, und durch Centrodesmosen verbunden werden. Aus jedem Basalkoerperchen stammt eine Geissel.

Die Zeichnungen der Figuren 12, 13 und 14 wurden mit Okular 12 und Immer.—Obj. 1,5 angefertigt.

Fig. 15—*Colponema globosum nov. sp.* im frischen Zustande gezeichnet mit Okular Leitz N. 4 u. Immers. Obj.—Zeiss 1,5

Fig. 16—*Eutreptiella marina* CUNHA, 1913 im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 17—*Marsupiogaster picta nov. sp.* im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 18—*Wissotzkia sp.;* im frischen Zustande mit Ok. 4 u. Immer.—Obj. 1/12 gezeichnet.

Fig. 19—*Carteria sp.* im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 20—*Carteria sp.* im frischen Zustande gezeichnet. Groesse 10 *Mikra* zu 7.

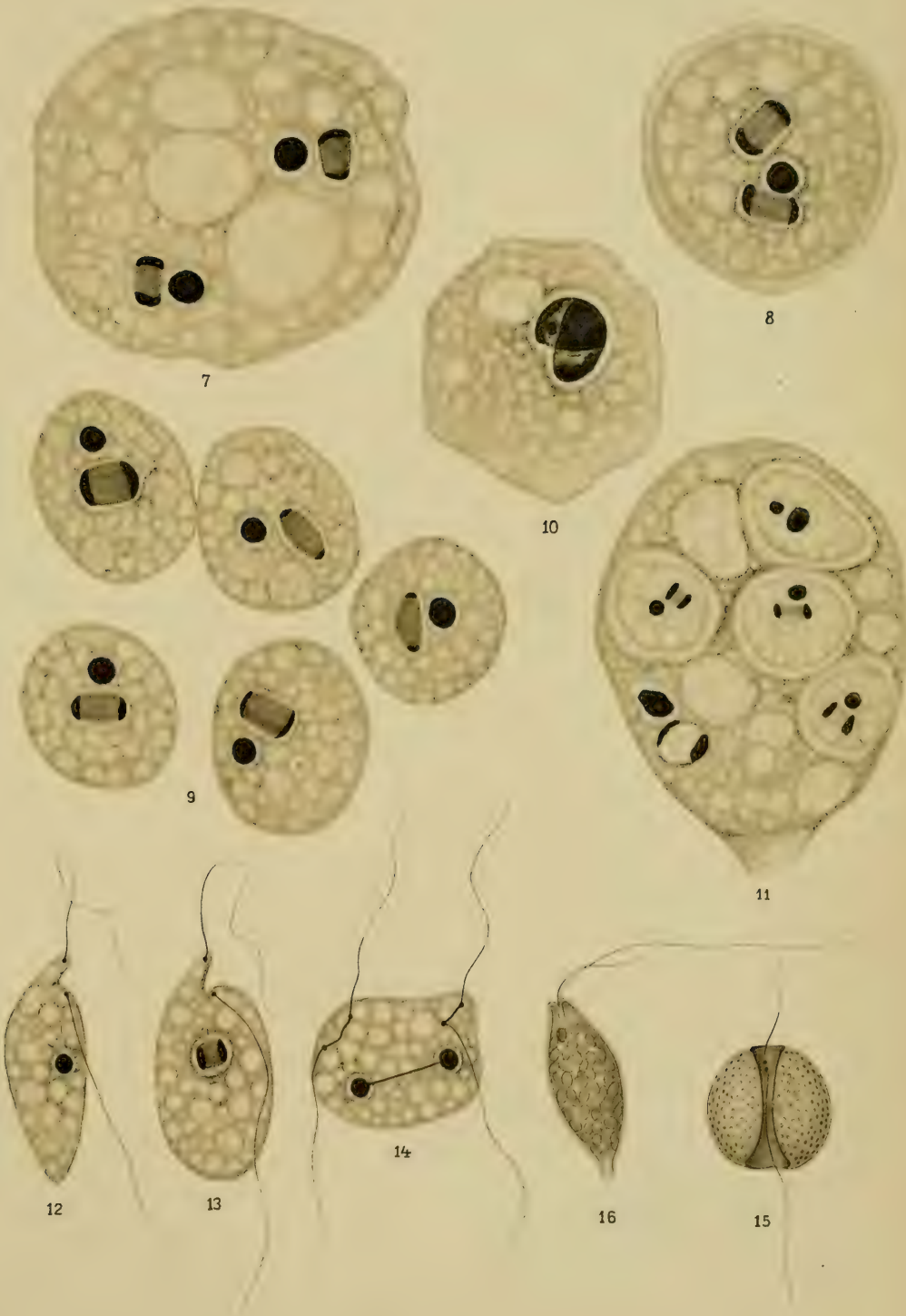
Fig. 21—*Carteria sp.* Vermehrung in der Cyste. Zeichnung im frischen Zustande. Groesse der Cyste: 14 *Mikra* zu 10.

Fig. 22—*Exuviella sp.* von vorne gesehen; im frischen Zustande mit Ok. 5 und Imm.—Obj. 1,8 gezeichnet.

Fig. 23—*Exuviella sp.* Seitenansicht.

RUD. FISCHER, del.

COMP. LITHOGRAPHICA S. PAULO-RIO



RUD. FISCHER, del.

RUD. FISCHER, del.

COMP. LITH. YPIRANGA-S. PAULO-RIO

Im frischen Zustande mit Ok. 5 und Immer.—Obj. 1,8 gezeichnet.

Fig. 24—*Prorocentrum sp.* im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 25—*Dysteria brasiliensis nov. sp.* im frischen Zustande mit Ok. 4 u. Obj. 4 mm. gezeichnet.

Fig. 26—*Dysteria compressa* GOUR. *et* ROESER, 1888 im frischen Zustande mit Ok. 4 u. Imm.—Obj. 1,5 mm. gezeichnet.

Fig. 27—*Trochilia sigmoides* DUJ. 1841. Ventrale Seite. Masse: 21 14; Mund: 12 *Mikra;* Schwanz verlaengerung: 4 *Mikra.* Im frischen Zustand gezeichnet.

Fig. 28—*Trochilia sigmoides* DUJ. 1841, Dorsale Seite. Masse 17 zu 11 *Mikra.*

Firn. 29 bis 32—*Trochilia sigmoides* DUJ. 1841. Praeparate durch HEIDENHAIN gefaerbt. Die in den Fig. 31 und 32 dargestellten Exemplare befinden sich bei der Teilung.

Fig. 33 — *Protocruzia pigerrima* (COHN, 1866, FAR., C. *et* P. 1922. Im frischen Zustand gezeichnet. Masse 21 zu 11 *Mikra.*

The Wassermann Test in Leishmaniosis

by

DR. ANTONIO EUGENIO DE ARÊA LEÃO

Leishmaniosis americana is taken to be one of the diseases in which the WASSERMANN test is frequently positive. This would appear, however, to be the result of erroneous observation, probably on cases having suffered from syphilis and in whom the disease was either not identified or not looked for. The same might perhaps be said of many other diseases, malaria, measles, scarlet fever etc. in which positive results have also been reported. Of these we will treat later but we are already entitled to assert, even though our statistics are still small, that we only obtained positive results on patients of scarlet fever measles or malaria that also suffered from syphilis. We will later submit proofs and arguments.

Syphilis is sometimes difficult to diagnose, inasmuch as the patients deny suffering from it. But after a positive test carried out with care, syphilis should be looked for by every other means possible.

The WASSERMANN test, although not based on a specific reaction, is positive in an enormous number of cases in syphilis. The reaction reveals the modifications introduced in the contaminated organism by the disease: a well done specific treatment makes them disappear sooner or later. For these reasons, and although we do not know the fundamental cause, the WASSERMANN test preserves a certain specificity in syphilis.

In how many cases in which it was impossible to diagnose syphilis clinically has not the WASSERMANN test aided in establishing a diagnostic which followed by specific treatment resulted in considerable improvements in the patient's health? As it is a very complex reaction, which depends on numerous elements, it is necessary that they should all be perfectly titrated: only like that can the results be relied on.

The differences in results of different authors are certainly due to the different technic used by each one. If the test is carried out under the same conditions and with the same technic it will give the same results even if done by different workers.

It is extremely necessary to use

more than one, and at least three antigens in the reaction, all of them titrated and studied as to their fixing power: the WASSERMANN test should never be practised with one antigen, because this might bring about grave errors. Cholesterinised antigens should be used with care and cholesterinising should be made by a previous titiation with known sera and comparatively with antigens already tried: thus the optimum quantity of cholesterin to add to a given volume of antigen is reached. This titration is lengthy and the antigen must only be made use of after it has been well verified with numerous known sera and compared with antigens already tried.

———

We tested the serum of 60 patients of Leishmaniosis americana in the 19th Ward of the Santa Casa de Misericordia of Rio de Janeiro. thanks to the courtesy of the chief, Prof. Dr. FERNANDO TERRA to whom we are very much indebted for his kindness.

In all patients we searched for syphilis most painstakingly, so as to be able to come to exact conclusions.

The clinical diagnostic of leishmaniosis, especially in the mucous form of the disease, lends itself to confusion with syphilis in its similar lesions: it is a capital fact that syphilis attacks the bony tissue whereas leishmaniosis may destroy the tissues and the cartilage but always leaves the bone intact.

The clinical precedents of each of the cases of great importance in revealing or excluding concomitant syphilis.

The serologic examination renders, we think, invaluable services, for out of the 60 cases we observed, not a single one of pure leishmaniosis, free from syphilis deviated the complement when mixed with the antigens used in the WASSERMANN test.

Technic employed in carrying out these reactions.

Antigens:—The antigens used were six in number: luetic liver (alcoholic extract of liver of fœtus with hereditary syphilis); human heart (cholesterinised alcoholic extract); ox-heart (cholesterinised alcoholic extract); antigens of acetone-insoluble lipoids, according to NOGUCHI's technic; antigen of BORDET and RUELENS (used in the Pasteur Institute of Brussels, a modification of NOGUCHI's process of extracting acetone-insoluble lipoids); antigen of LESSER(ethereal extract of ox-heart). Acetone-insoluble lipoids, both for NOGUCHI's and for BORDET and RUELENS' process were extracted from ox-heart.

All these antigens were perfectly known having been tried on numerous known syphilitic and known normal sera. Nevertheless, to make sure, they were all titrated again on the day of the reaction as to their inhibitory power and controlled with known positive and known negative sera. For verifying the inhibitory power we used two or three times the dose employed in reactions together with a fixed dose of complement and sheep-corpuscles sensitised with two or three hemolysing units.

Complement:—We employed fresh guinea-pig serum; to obtain a more homogeneous complement we employed from eight to ten guinea-pigs which were bled on the same day the reaction was carried out. Complement titration was done by mixing with a fixed dose of hemolysins and the dose of antigen to be used in the reaction.

Hemolytic system:—Rabbit anti-red corpuscles of sheep, the potency of the serum for the corpuscles being always controlled on the day it is made use of.

We also verified all the other elements, complement, hemolysins, antigens and saline solution, taken one by one and mixed with sheep corpuscles to see

if by themselves they would produce hemolysis.

All these indispensable complementary tests having been performed so as to make sure of the working of all the elements entering into the reaction, we next carried out the test with the serum of the patients of leishmaniosis. These sera were collected, separated from coagulum and inactivated in a water-bath at 56ºC., during half an hour, and were then kept on ice until next day when the test was carried out.

0,2 of serum were placed in each of seven tubes: each of them received 0,2 of a different antigen except the last one which remained as control of serum. We next added the quantity of complement determined by the previous titrations and filled all the tubes up to 2 cc. with saline solution at 0,85 %.

The tubes were then placed in a water-bath at 37ºC. to undergo the first incubation for the space of an hour. An hour after, we added the sheep corpuscles (5 % emulsion in saeine solution) sensitised with 2 to 3 hemolytic units. Reading was done at the end of an hour when controls were completely hemolysed.

With this technic it never happened for serum of patients of leishmaniosis alone, on whom a careful clinical observation had excluded syphilis, to give positive WASSERMANN tests.

Of all the cases we observed, all the ones in which positive WASSERMANN tests were obtained were found to be suffering also from syphilis and specific treatment would support our views. In these cases the ministering of tartar emetic by GASPAR VIANNA's process was not enough to completely cure the patient and specific antisyphilitic treatment would hasten and complete the treatment. This was thus therapeutic proof to confirm the clinical one and the result of the WASSERMANN test. Tartar emetic although taken to be an active cicatrisant has no curative action on syphilitic lesions nor does specific antisyphilitic medication, mercury and arsenicals, cure leishmaniosis. In medical litterature there is no lack of observations of cases of leishmaniosis cured or improved by 914 and even in treatises on pathology 914 is currently prescribed in the treatment of this disease. In leishmaniosis americana we never observed a case to be cured or improved by this treatment: the only patients that profit and profit considerably by this treatment are the ones suffering at the same time from syphilis.

Out of the patients we observed, one of them, the patient of observation 27 died: as this observation is of some interest since it was a case of mixed cutaneous leishmaniosis and terciary syphilis with WASSERMANN test strongly positive with the six antigens used and absence of total hemolysis with all of them,we describe the clinical case and the results of the autopsy carried out in the Department for Pathological Anatomy of the Instituto Oswaldo Cruz by the assistant Dr. CEZAR GUERREIRO to whom we are very much indebted for the information given.

Obs. XXVII.—C. F.—Subject of black colour, with a big ulceration on the nose extending from both sides and destroying the external nostrils: nasal septum destroyed and bony parts of nose affected. From nose ulceration extended to upper lip, which besides oedema, had a circular ulceration 4 centimetres in diameter rounded and with projecting borders. Within mouth could be noted ulceration of tonsils; epiglottis partly destroyed; vocal chords totally ulcerated and destroyed; the patient was almost aphonic, it being almost impossible to perceive his words. Pharynx covered by a big ulceration, of irregular borders, rough and purulent surface. Oesophagus affected in the neighbourhood of the pharynx. On the limbs ulce-

rations of different sizes from three to ten centimetres in diameter. Ulcerations generally rounded and covered with a dark yellow and adhering crust. Below this crust surface was rough and purulent. Ulcerations bled with ease, as soon as the crust was removed and the patients complained of acute pains. Inguino-crural and epitrochlear ganglia swollen in size.

On glans a quite noticeable white scar, from a chancre in the patient's previous history. Smears made with pieces of ulcers and stained by GIEMSA process, revealed numerous leishmanias, either isolated in a microscopic field or else in great numbers parasiting big mononuclear leucocytes and heaped up in their protoplasm, leaving on sight the intensely stained nucleus and the outlines of the protoplasm.

In symbiosis with the leishmanias could be seen in the microscopic field spirilla and fusiform bacilli. We have already seen this fuso-spirillar symbiosis in other lesions besides angina and oriental sore, such as ulcerated epithelioma, blastomycosis, syphilitic or simple chancres etc.

It is probably a factor of contamination, which the ulceration, giving it immediately a phagedenic character and the treatment is very much helped by the local ministration of antiseptics.

We made a biopsy of the ulceration of the nose and the small piece removed was fixed in SCHAUDINN sublimate-alcohol and embedded according to the ordinary methods. The sections stained with GIEMSA, hematoxylin-eosin and VAN GIESON showed numerous leishmanias, sometimes isolated and between the tissue cells as those emigrated from the blood or, more commonly, parasiting the great mononuclear leucocytes.

The patient died when still under treatment and right in the beginning of it from a process of acute miliary tuberculosis as will be seen in the protocol. Let it be remarked in passing, that leishmaniosis in its mucous form, the most serious and resistant to treatment, with its frequent recidives destroying the cartilages of the nose, hindering thereby normal breathing, making breathing through the mouth necessary and attacking all the organs found at the back of the mouth (tonsils etc.) which are the means of defense of the body places the human body in a state of inferiority rendering the invasion by other diseases whose saprophytic germs are found under normal conditions in the mouth (tuberculosis, diphtheria etc.) easy.

Leishmaniosis is not a disease producing by itself death; generally the cases become chronic and when death ensues it is very often due to tuberculosis which finding a favourable ground has developed meanwhile.

———

Autopsy: — Diagnostic: Tuberculosis miliaris acuta pulmonum, hepatis et lienis. Lymphadenitis tuberculosa mesaraica. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Pharyngitis ulcerativa. Laryngitis ulcerativa. Oesophagitis ulcerativa. Tracheitis ulcerativa.Syphilis. Cicatrix penis. Perisplenitis chronica. Pleuritis adhesiva sub-acuta. Hypertrophia ventriculi utriusque. Aortitis. Cladis soepti nasis. Ulcus alae sinistrae nasis. (Leishmaniosis). Granuloma nasis (Leishmaniosis). Ulcus labii superioris (Leishmaniosis). Atrophia renum. Ankylostomiasis.

Cadaver of male sex, rather emaciated. Cutaneous teguments black. No oedema on lower limbs. Irregular distribution of hair. Superficial cicatrix of balano-preputial ridge. Inguino — crural ganglia enlarged, gliding under fingers when felt. Small tension of abdomen. Intercostal spaces depressed. Upper lip with a loss of substance affecting the

whole lip: slight depth with granular ground. Nose also with losses in cartilaginous septum. Left nostril with vegetative formations the size of an almond. Right nostril with an ulceration covering it entirely. Both fossae very much narrowed. Cornea transparent pupils equally dilated. Section shows a somewhat reduced fatty stratum, 2 mm. on the abdominal wall, muscular layer 7 mm. Muscles brown, rather dry. In the deeper parts of the abdomen no liquid. Liver reaching beyond xyphoid process 6 cm, covered by costal border at the height of the papilla. Location of diaphragm 6th rib on either side. Pericardium on view in an extension of 9 cm. In the pericardial sac 30 cc. of a serous yellow liquid. Mucous tissue at the base of the tongue reddened with the glandules in evidence. Pharynx with an ulceration covering it completely. Epiglottis with border partly destroyed. Aryteno-epiglottic fold narrowed with granular thickened mucous membrane. Complete destruction of vocal chords: in their place an ulceration of granular ground. Tonsils also ulcerated with almost complete loss of tissue-substance. Oesophagus with the mucous layer of its upper part completely destroyed. Upper third of trachæa with turgid vessels, the upper part swollen and the mucous membrane destroyed. Left lung adhering to the costal pleura in its whole surface by weak fibrous strands. Right lung free, the cavity almost empty. Left lung enlarged, with increased consistency. On section shows a diminute volume of air: distributed all over the tissue whitish nodules, bigger than pin-heads: interstitial part of the nodules of a reddish hue and jelly-like consistency. Pleura covered by a fibrous thickening of jelly-like aspect. Peri-bronchial lymphatic glands enlarged, of dark-coloured tissue. Lower margins of lungs containing a little air and giving a diminished crepitation. Right lung: pleura smooth; under it on lung-tissue several whitened, unequally-sized nodules. The three lobules connected by fibrous strands. At section all the lung-tissue shows nodules similar to the ones of left lung, but sparser: relatively more air is kept in parenchyma. Interstitial tissue also with jelly-like appearance and consistency. Heart not enlarged in relation to stature. Pleural leaf of epicardium smooth. Sub-epicardial fat rather reduced. Right ventricle: endocardium smooth; thickness of ventricle 3 mm: muscle brownish. Right auricle: endocardium smooth: mitral valves not thickened. Spleen adhering strongly to diaphragm and to neighbouring organs by fibrous strands: dimensions at convexity $14 + 10 + 4$. On section splenic pulp of a dark colour; follicular apparatus not perceptible. Supporting apparatus fairly evident: dispersed on pulp, whitish nodules larger than a pin-head and clearly limited in the tissue are to be seen. Liver with strong fibrous connections with diaphragm several vertical indentations. On section lobular outlines faint; a volume of blood kept in the organ; in isolated points, several nodules more or less of the size of a pin-head, clearly limited in tissue. Gall bladder with thin walls containing a few cc. of greenish and fluid bile.

Medulla of both adrenals darkish showing ill-defined whitish spots. Both kidneys somewhat reduced in volume; fibrous capsules easily detachable. On section cortex not much reduced limits between the two layers indistinct. Outline of pyramids slightly injected. Pelvis of kidney narrow; ureter permeable. Bladder contracted containing a few centimeters of cloudy urine. Prostate small whitish. Vesicula seminalis with thin walls freeing, when pressed, a cloudy mucous fluid. Both testes not enlarged; tissue brownish. Tubules not easily isolated. Abdominal aorta with a smooth and shining inner coat. Mesenteric and

mesocolic ganglia enlarged some with the tissue in advanced stage of caseification Mucous membrane of the intestine of a diffuse reddish colour all over: some ankylostoma are to be seen. At the height of jejunum a loss of tissue of 1—4 centimeters with projecting margins and rough ground. In ileum two similar losses close to each other, about 1 centimetre in diameter with projecting borders and a rough ground. Gastric mucous membrane diffusely reddish: no loss of tissue. Skull asymetric with somewhat thickened. walls. Dura mater equally tense on both sides. Menynges of a milkish appearance both at base and in convex part: no granules. Frontal and longitudinal sections show nothing abnormal in brain, cerebellum and medullary bulb. Microscopic sections of organs and ulcerations showed tubercular and syphilitic lesions.

Protocol

Obs. I.—J. M.—Single, 58 years, resident at Rua da Republica, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Ob. II.—C. G. S.—Brazilian, white, 42 years, single, resident at S. João Marcos, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. III.—J. P. S.—Brazilian, white, farm-labourer, 44 years, married, resident at Itaperuna, State of Minas Geraes *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative

Obs. IV.—J. S. J.—Brazilian, mulatto, 52 years, single resident at Itaocara, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. V.—C. P.—Greek, white, workman, 43 years, married, no residence. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. VI.—O. A. S.—Brazilian, white, 34 years, single, resident at Estação do Livramento, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. VII.—A. M.—Portuguese, white, 60 years, married, mason, resident at Campo Grande. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. VIII.—A. M.—Brazilian, black, single, 26 years, mason, resident at Rua Conselheiro Octaviano, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. IX.—O. A. S.—Brazilian, white, 34 years, single, workman, resident at Estação do Livramento, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. X.—M. B. O.—Brazilian, white, 60 years workman, resident at Lençóes do Rio Verde, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea; syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XI.—M. A. L.—Brazilian, white, 32, years, married, workman, resident at Rua Paysandú 18, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XII.—J. F. A.—Brazilian, mulatto, 35 years, married, workman, resident at Santa Isabel. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XIII.—A. M.—Turk, white, 35 years, single, grocer, resident at Rua Buenos Ayres 348, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XIV.—A. F.—Brazilian, white, 19 years, married, shoemaker, resident at Rua Tavares 276, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XV.—A. B. O.—Brazilian, white, 30 years, single, no residence. *Leishmaniosis tegumentaria mucosa: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XVI.—L. L.—Portuguese, white, 42 years, married, workman, resident at Campinas, State of S. Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea: syphilis.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XVII.—Brasilian, black, 45 years, single, workman, resident at Triagem, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XVIII.—A. M. G.—Portuguese, white, 63 years, single, workman, resident at Rua Theophilo Ottoni, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XIX.—A. R. L.—Brazilian, mulatto, 22 years, single, workman n resident at Estação Lagão, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XX.—M. A. L.—Brazilian, white, 23 years, married, resident at Therezina, State of Piauhy. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXI.—O. S. A.—Brazilian, white, 35 years, married, resident, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXII.—M. S.—Brazilian, black, 35 years, single, resident at Itaborahy *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXIII.—C. J. S.—Brazilian, mulatto, 56 years, single, resident at Saquarema, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXIV.—A. F.—Brazilian, white, 22 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXV.—J. F. A.—Brazilian, white, 32 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXVI.—A. M. G.—Portuguese, white, 60 years, single, workman, resident at Bauru, State of São Paulo *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXVII.—C. F.—Brazilian, black 50 years, single, workman, resident in State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria: tuberculosis miliaris acuta.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXVIII.—J. C.—Brazilian, black, 28 years, single, farm-hand, resident in the State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXIX.—J. F. S.—Brazilian, white, 20 years, single, sawyer, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXX.—J. S.—Turk, white, 33 years, married, resident at Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXI.—J. G. S.—Brazilian, black, 25 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXII.—C. J.—Brazilian, white 27 years, single, resident in State of Minas Geraes: *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXIII.—M. P.—Brazilian, white, 32 years, married, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXIV.—M. L.—Brazilian, black 24 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXV.—F. I.—Brazilian, white, 35 years, single, resident in State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXVI.—J. C.—Brazilian, whi-

te, 39 years, single, resident in State São Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria*.. WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXXVII.—A. C. M.—Portuguese, white, 45 years, married, resident at Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXXVIII.—A. F. F.—Brazilian, white, 24 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXIX.—A. N. O.—Portuguese, white, 32 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XL.—B.R.—Brazilian, white, 19 years, single, resident in State of Rio. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis hereditaria.* WASSERMANN test: Positive.

Ob. XLI.—C. G. J.—Italian, white, 27 years, married, resident in State of São Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XLII.—J. Z.—Italian, white, 34 years, married resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLIII.—J. M.—Brazilian, black, 28 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLIV.—G. N. O.—Brazilian, white, 48 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLV.—A. C.—Portuguese, white, 50 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLVI.—A. J. C.—Portuguese, white, 42 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLVII.—M. G. G.—Brazilian, black, 29 years, single, resident in State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XLVIII.—S. P.—Brazilian, white, 36 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLIX.—G. N. O.—Brazilian, white, 50 years, married, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Ob. L.—P. A.—Portuguese, white, 26 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LI.—A. G.—Brazilian, white, 34 years, single, resident in Federal District, *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LII.—M. F. P.—Portuguese, white, 40 years, single resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LIII.—P. A. C.—Brazilian, white, 36 years, married, resident in State of Parahyba. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LIV.—A. P. M.—Portuguese, white, 40 years, single, resident in State of São Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LV.—J. G.—Brazilian, black, 36 years, single, resident in State of Espirito Santo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LVI.—M. N.—Brazilian, black, 24 years, single, resident in State of Paraná. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LVII.—A. W. M.— American,

white, 38 years, single, no residence. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LVIII.—F. S. T.—Brazilian, white, 49 years, married, residen in State of Bahia. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea: syphilis.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LIX.—P. A. O.—Brazilian, black, 34 years, single, resident in State of Matto Grosso. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LX.—M. E. F.—Brazilian, black, 31 years, married, resident in state of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test:. Negative.

Conclusions.

The serum of patients of *Leishmaniosis americana,* in any of its clinical forms, cutaneous, mucous or mixed, does not deviate the complement when mixed with the antigens usually employed in WASSERMANN test.

In the cases in which positive results are obtained with WASSERMANN tests on the sera of patients of this disease, syphilis exists simultaneously.

Contributions à l'étude de faune helmintholo-gique du Brésil. XVII.

Gorgoderidae brésiliennes.

par le

Dr. Lauro Travassos.

(avec les planches 26—30)

Dans un travail, présenté à la Société Brésilienne des Sciences, en juin 1920, j'avais passé en revue les espèces brésiliennes de la famille *Gorgoderidae*, mais ce travail ne pouvait pas être accompagné de figures et ne fut publié qu'en janvier 1922 dans le «Brazil-Medico».

Après la présentiation de ce travail, j'ai encore augmenté mon matériel, et j'ai reçu, par l'amabilité du Dr. v. CLEAVE, le travail de LINTON, dans lequel cet auteur établit le genre *Xystrectum*.

Ainsi mon présent travail n'est que le travail antérieur, seulement plus développé, plus complet et bien illustré.

La famille *Gorgoderidae* LOOSS 1901 se caractérise principalement par les vitellogènes, presque toujours réunis en deux masses glandulaires, généralement arrondies, lobées ou ramifiées, ou, plus rarement, en grappes; ces vitellogènes sont pour la plupart intra-cécaux, quelquefois cécaux ou extra-cécaux. Les testicules sont généralement cécaux ou extra-cécaux, et peuvent être constitués par deux masses glandulaires rondes ou ramifiées, ou par un grand nombre de glandes, disposées en grappes ou en série. L'ovaire, rond ou lobé, est toujours pré-testiculaire ou post-acétabulaire. La bourse de cirre ou manque ou n'est que rudimentaire; rarement il a un cirre protatil.

Le pore génital est médian, pré-acétabulaire, bifurcaire ou post-bifurcaire.

Les coecums sont généralement larges, longs ou courts. Le pharynx ou manque ou n'est que rudimentaire. L'appareil excréteur, connu seulement pour un petit nombre d'espèces, est généralement constitué par une vésicule grande,

plus ou moins irrégulaire, où les lacunes collectrices viennent s'ouvrir.

L'habitat est la vésicule biliaire ou la vésicule urinaire.

Cette famille est constituée par trois sous-familles: *Gorgoderinae, Anaporrhutinae* et *Callodistominae*. Dans mon travail antérieur j'y avais ajouté une quatrième, les *Isoparorchinae*, mais j'ai vérifié plus tard que cette dernière doit faire part des *Hemiuridae*.

Jusqu'à un certain point ce groupe s'approche des *Zoogonidae* par l'aspect général, et en est même très voisin par quelques de ses genres, par exemple, par le *Lecithostaphilum* (fig. 17).

Jusqu'à présent, cette famille n'est représentée au Brésil que par 4 espèces, dont une mentionnée par DIESING, une autre par BRAUN et deux par moi. Il est, toutefois, évident qu'avec la continuation des recherches son nombre augmentera beaucoup.

Dans le présent travail je suivrai l'orientation du travail antérieur sur la même matière; je donnerai une clef générale de sous-familles et de genres, suivie par une liste d'espèces avec la description des espèces brésiliennes.

La clef sera éclaircie par un schème démonstratif des divers genres ainsi que des genres *Isoparorchis* (fig. 16) et *Lecithostaphilum* (fig. 17).

Clef des sous-familles et des genres.

1—Vitellogènes lobés ou ronds; testicules dans l'aire intracécal.
Gorgoderinae

A—Corps cylindrique.

B—9 Testicules:
Gorgodera (Fig. 10)

B'—2 Testicules:
Gorgoderina (Fig. 11)

A'—Corps plat:

C—Coecums fondus postérieurement:
Macia (Fig. 8)

C'—Coecum?, face abdominale avec un disque saillant strié;:
Xystretum (Fig. 9)

C"—Coecums pas fondus postérieurement:

D—Vitellogènes dans la zone ovarienne ou post-ovarienne;
Catroptoides (Fig. 7)

D'Vitellogènes pré-ovariens:
Phyllodistomum (Fig. 6)

11—Vitellogènes ramifiés ou en grappe; testicules intra-cécaux ou extra-cécaux;

a—Testicules ramifiés ou dédoublés:
Anaporrhutinae

b—Testicules ramifiés, dans l'aire cécale:
Plesiochorus (Fig. 5)

b'—De nombreux testicules, dans l'aire cécale ou extra-cécale:

c—Vitellogènes extra-cécaux:
Probolitrema (Fig. 4)

c'—Vitellogènes intra-cécaux:

d—Testicules dans l'aire cécale, intra-cécale et extra-cécale:
Anaporrhutum (Fig. 1)

d'—Testicules dans l'aire extra-cécale:

e—Testicules grands, deux ou trois de chaque côté.
Petalodistomum (Fig. 3)

e'—Testicules petits, très nombreux:
Staphylorchis (Fig. 2)

a'—Deux testicules ronds:
Callodistominae.

aa—Testicules extra-cécaux:
Callodistomum (Fig. 12)

aa'—Testicules intra-cécaux:

bb—Coecums courts; l'extrémité céphalique a une conformation péculière:
Thaumatocotyle (Fig. 14)

bb'—Coecums longs, l'extrémité céphalique normale:

cc—Corps étroit; les vitellogènes ont peu de follicules:
Cholepotes (Fig. 15)

cc'—Corps large; vitellogènes ont grand nombre de follicules:
Prosthenhystera (Fig. 13)

Liste des espèces

Gorgoderidae LOOSS, 1901.

Gorgoderinae LOOSS, 1899.

Gorgodera LOOSS, 1899.

Gorgodera cygnoides (ZEDER, 1800) type.
Gorgodera amplicava LOOSS, 1899.
Gorgodera loossi SSINITZIN, 1905.
Gorgodera pagenstecheri SSINITZIN, 1905.
Gorgodera varsoviensis SSINITZIN, 1905.
Gorgodera australiensis JOHNSTON, 1912.
Gorgodera minima CORT, 1912.
Gorgodera circava GUBERLET, 1920

Gorgoderina LOOSS, 1902.

Gorgoderina simplex (LOOSS, 1899) type.
Gorgoderina vitellilobata (OLSSON, 1876).
Gorgoderina translucida (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina opaca (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina attenuata (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina parvicava TRAVASSOS, 1920 (Figs. 18—20).

Longueur: 6 à 11 mm.; largeur 1 à 2 mm. Corps fusiforme, atténué vers les extrémités; en vie, couleur de rose; cuticule lisse, sans épines; ventouse orale grande, forte, sous-terminale, mesure plus ou moins 0,47 à 0,70 mm. de diamètre chez les exemplares longs comprimés; pharynx manque; l'oesophage en forme de Y, peu musculeux, mesure plus ou moins 0,17 à 0,47 mm.; de longueur; coecums larges, s'étendant jusqu'à près de l'extrémité postérieure du corps; l'acétabulum musculeux, petit, mesure plus ou moins 0,31 à 0,56 mm. de diamètre; pore génital médian; au-dessous de la bifurcation oesophagienne; bourse de cirre manque; il y a un long canal à parois peu nettes: le canal éjaculateur, qui communique la vésicule séminale, située dans la région dorsale, avec l'atrium; la vésicule génitale à parois peu différenciées, peu volumineuse; le canal éjaculateur mesure plus ou moins 0,78 mm.; de longueur; testicules éloignés l'un de l'autre, intracécaux, dorsaux, ellipsoides, mesurent respectivement: l'antérieur plus ou moins 0,52 à 0,87 mm. sur 0,31 à 0,71 mm.; le postérieur 0,61 à 1 mm.; sur 0,31 à 0,78 mm.; ovaire ellipsoide, pré-testiculaire, partiellement dans le champ testiculaire, post-acétabulaire, avec la zone en contact avec celle des vitellogènes, mesure plus ou moins 0,45 à 0,64 mm. de longueur sur 0,26 à 0,43 de largeur maximum; vitellogènes ellipsoides, à contours réguliers, pré-ovariens, au-dessous de la glande coquillière; ils mesurent plus ou moins 0,28 à 0,40 mm.; de longueur sur 0,14 à 0,28 mm.; de largeur maximum; ils se communiquent avec la glande coquillière par un court canal en forme de Y; la glande coquillière au-dessus de la zone des vitellogènes et au-dessous de la zone acétabulaire, mesure plus ou moins 0,15 à 0,26 mm.; de longueur sur 0,08 à 0,17 mm. de largeur maximum; l'utérus avec de nombreuses circonvolutions, occupant toute la portion post-ovarienne du corps, soit dans l'aire extra-cécale, soit dans l'aire intra-cécale; au-dessus de l'ovaire les circonvolutions utérines se font plus nombreuses et sont pleines d'oeufs murs jusqu'à un peu au-dessus de la zone acétabulaire, où elles diminuent de diametre, pour constituer un vagin peu musculeux, qui s'ouvre dans un atrium court; oeufs de plus ou moins 0,039 à 0,042 mm.; de longueur sur 0,028 mm. de largeur maximum.

Habitat: Vésicule urinaire du *Leptodactylus ocelatus.*

Prov.: Manguinhos, Angra dos Reis, São Paulo (Institut Bactériologique). J'ai

trouvé cette espèce, à Manguinhos, parasitant des grenouilles, bien que pas fréquemment, mais quelquefois en grand nombre. A Angra dos Reis, j'ai une fois recontré de nombreux exemplaires, dont quelques-uns très grands. Dans du matériel, envoyé par l'Institut Bactériologique de S. Paulo, et cueilli par M. le Dr. A. LUTZ, j'ai aussi trouvé des exempaires de cette espèce, rotulés: *Distoma cygnoides*. C'est aussi dans cette espèce qu'il faut placer le *Pleorchis cygnoidse* GALLI-VALERIO, 1909.

L'espèce brésilienne se distingue de toutes les autres espèces de ce genre par la dimension réduite del'acétabulum en comparaison de la ventouse orale.

***

Cuticule et corps.—La cuticule est dépourvue d'épines. La musculature du corps est faible, un peu plus condensée près de la cuticule, la portion interne étant constituée par un réseau de fibrilles à mailles très larges, où se trouvent de grandes ccellules. L'acétabulum est constitué par des fibrilles très éloignées les unes des autres, et peu différenciées.

Appareil digestif.—La ventouse orale est forte, avecc des fibres radiaires et quelques fibres annulaires; son structure est forte, mais la musculature n'est pas exagérée. Elle est immédiatement suivie par l'oesophage, sinueux et court, et absolument dépourvu de pharynx.

Autour de l'oesophage il y a quelques cellules grandes et piriformes, lesquelles ont probablement une fonction glandulaire.

Le revêtement interne de l'oesophage est fort, et bien épais; la portion musculaire de la paroi est relativement mince. L'intestin est la continuation de l'oesophage sans transition nette, et présente un revêtement interne plus mince que le dernier.

Appareil reproducteur: Le pore génital donne accés à un vestibule courte, à l'atrium génital, où s'ouvrent les canaux mâle et femelle, dont le premier est antérieur et l'autre postérieur. Le canal mâle (fig. 19) conduit à un réservoir de spermatozoides, situé dorsalment; il a les parois faibles et une direction ventro-dorsale, et, extérieurement est garni d'un grand nombre de glandes prostatiques. Le réservoir de spermatozoides a les parois très minces, presque nulles, et présente une ouverture antéro-ventrale; qui se communique avec le canal éjaculateur, et une autre, postéro-dorsale, qui se communique avec le canal déférent, lequel, simple au commencement, se bifurque plus en avant pour se diriger aux testicules.

Les canaux déférents sont très minces et à lumière petite. Ils se dirigent d'avant en arrière, dorsalment par rapport aux circonvolutions utérines, et arrivent aux testicules par la face antérieure.

Les testicules sont enveloppés par une mince membrane, et montrent la structure péculière au testicule des trématodes. Chez les individus plus jeunes, il y a dans toute la masse testiculaire un grand nombre de cellules, et chez les individus plus vieux les cellules de la portion centrale se trouvent toutes transformées en spermatozoides, et celles de la périphérie se trouvent encore dans les divisions iniciales.

De l'ovaire, à structure péculière, sort un oviducte, lequel se réunit aux vitelloductes dans la glande coquillière. Cet oviducte est très court et est suivi, sans nette transition, par l'utérus. Dans les premières portions de l'utérus les parois sont épaisses et le calibre petit, mais plus en avant, les parois sont minces, et le calibre gros (fig. 19). L'utérus est très sinueux et se dirige premièrement vers la face dorsale jusqu'au voisinage de la cuticule; ensuite il se dirige vers l'extrémité postérieure par un

des côtés du parasite en formant beaucoup de circonvolutions, jusqu'a atteindre l'extrémité postérieure, d'où il se dirige vers l'extrémité antérieure, en occupant le côté opposé du parasite, et aussi la face ventrale. Au niveau de l'acétabulum il forme des circonvolutions très larges et de là en avant il diminue progressivement jusqu'à se transformer en un vagin (Fig. 19) à parois relativament épaisses et pourvues extérieurement de glandes unicellulaires et piriformes. Le vagin termine dans l'atrium, postérieurement à l'ouverture mâle.

Je n'ai pas vu un canal de Laurer, ni réservoir séminal femelle.

Appareil excréteur.—La vésicule est tubulée et unique, à calibre relativement petit. Elle se dirige d'arrière en avant, dorsalment par rapport aux circonvolutions utérines.

En résumé, ce parasite se caractérise par une structure peu musculeuse, et par le grand développement utérin,

Malgré l'évidente parenté entre les genres *Gorgodera* et *Gorgoderina*, et bien que les multiples testicules du genre *Gogodrea*, puissent être considérés, à cause de sa distribution en série, comme des testicules lobés, la nette caractérisation par le nombre différent de testicules, toujours constant et sans formes intermediaires, est pour moi hors de doute.

Phyllodistomum BRAUN, 1899.

P. folium (OLFERS, 1816) type.
P. conostomum (OLSSON, 1876).
P. patellare (STURGES, 1897)
P. acceptum LOOSS, 1901.
P. unicum ODHNER, 1902.
P. linguale ODHNER, 1902.
P. americanum OSBORN, 1903.
P. superbum STAFFORD, 1904.

Catroptoides ODHNER, 1902 in LOOSS.

Catroptoides spatula (ODHNER, 1902) type.
Catroptoides spatuliformis (ODHNER, 1902).
Catroptoides macrocotyle LUEHE, 1909.
Catroptoides angulatus (V. LINSTOW, 1907).

Macia TRAV., 1920.

Corps plat, avec un segment conique antérieur, pré-acétabulaire, et un autre, postérieur, circulaire. Ventouse orale grande, circulaire; acétabulum pré-équatorial; pharynx manque; coecums fondus; pore génital médian, au-dessous de la bifurcation oesophagienne; testicules lobés, équatoriaux avec des zones coincidentes et des champs éloignés, ovaire dans le champ d'un des testicules; zone en contact avec celle des testicules; vitellogènes profondément lobés, dans la zone ovarienne, champs séparés, au côté intérieur des champs testiculaires ou, en partie, dans les champs testiculaires; disque ventral strié manque.

Habitat: Vésicule urinaire de poissons.

Espèce type: *M. magna* (MAC CALLUM, 1917).

D'autres espèces: *M. aluterae* (MAC CALLUM, 1917).

Macia pulchra TRAV., 1920.
(Fig. 21 et 23)

Longueur: 4,5 mm.; largeur 3 mm.

Corps plat, délicat, en forme de viole, c'est-à-dire, la portion postérieure est plus ou moins circulaire, tandis que la portion antérieure est conique et étroite; cuticule sans épines; ventouse orale forte, plus petite que l'acétabulum, mesure plus ou moins 0,49 mm.; de diamètre; pharynx manque; oesophage sinueux, large, mesure plus ou moins 0,24 mm.; coecums unis dans l'extrémité postérieure, à grosseur uniforme, mesurant plus ou moins 0,21 de large; acétabulum fort, pré-équatorial, mesure plus ou moins 0,71, et est situé au point de séparation

entre la portion antérieure conique et la portion postérieure circulaire; pore génital, situé immédiatement derrière la bifurcation intestinale; bourse de cirre, mesurant plus ou moins 0,31 mm. de longueur, musculeuse, avec une petite vésicule séminale; testicules lobés et ellipsoides, transversaux, mesurent 0,38 sur 0,29 mm.; et 0,43 sur 0,22 mm.; post-équatoriaux, zones coincidentes, champs éloignés; ovaire rond, mesurant 0,21 mm. de diametre; zone en contact avec la zone testiculaire; champ coincidant avec celui du testicule gauche; vitellogènes équatoriaux, constitués par 3 à 4 lobes digitiformes, mesurant plus ou moins 0,31 sur 0,12 et 0,28 sur 0,08 mm.; champs prochains et situés au côté intérieur des champs testiculaires, zones coincidentes, au-dessus de et en contact avec la zone ovarienne; l'utérus dans l'aure intra-cécale et post-acétabulaire; oeufs de dimensions très variables, dont quelquesuns trés petits malgré l'aspect parfait; les plus grands mesurent plus ou moins 0,051 à 0,057 mm.; sur 0,028 à 0,034 mm. de largeur maximum; les plus petits mesurent jusqu'à 0,026 mm.; de longueur sur 0,015 mm. de largeur maximum; pore excréteur sous-terminal; vésicule excrétoire cylindrique, droite.

Habitat: Vésicule urinaire de *Sperοides testudineus* (L.), « baiacú ».

Provenance: Manguinhos.

Cette espèce est relativement commune dans les « baiacú » de la baie de de Rio de Janeiro. Elle s'approche assez des espèces décrites par MAC CALLUM. Dans un exemplaire j'ai noté une anomalie formée par la suppression d'un des testicules (Fig. 28). L'espèce est très délicate, et, en vie, son corps est translucide, mais pas transparent. Malgré l'étude de quelques dizaines d'exemplaires je n'ai jamais observé une séparation des coecums, lesquels, dû à la faible transparence, du parasite, il n'était pas toujours facile de voir sans l'aide de manipulations techniques. J'ai aussi noté une grande variation des dimensions des oeufs, même des oeufs, apparemment fécondés.

Chez des exemplaires très transparents de cette espèce on peut quelquefois noter un faible commencement de striation, semblable à celle mentionnée pour le genre *Xystretum* et dont je discuterai la valeur systématique d'ici à peu.

Xystretum LINTON, 1910.

LINTON donne la suivante définition de ce genre:

« Cou cylindrique, corps sous-orbiculaire à bords minces, dont la portion centrale est épaisse et sillonnée par de nombreuses stries transversales, peu saillantes; testicules opposés, post-acétabulaires; ovaire pré-testiculaire; vitellogènes médians, situés au-dessous de l'acétabulum et devant les testicules; l'utérus situé au-dessous des testicules; l'ouverture génitale médiane, située au-dessous de la ventouse orale; pharynx manque; les extrémités postérieures de l'intestin très voisines, mais il est impossible de savoir si elles sont fondues ou non ».

L'auteur ne mentionne pas une espèce type, mais comme telle doit, sans doute, être considéré le *X. solidum* LINTON, 1910, décrit antérieurement comme *Distomum sp.* Cet anteur décrit, ensuite, sous le nom de *X. papillosum,* une autre espèce, chez laquelle il ne pouvait voir, comme chez la première, s'il y a fusion intestinale ou non. Dans toutes les deux espèces le disque ventral est très distinct.

Le *X. papillosum* présente de curieuses formations cuticulaires, que LINTON appelle épines; « papillar spines cover the neck and body and line the cavities of the suckers ». Il me semble que ce dispositif péculier suffit pour la caractérisation d'un genre.

Lorsque je présentais en 1920, mon premier travail sur ce groupe de parasites, je n'avais pas encore obtenu le travail de LINTON. Par le travail de cet

auteur je vois que mon genre *Macia* est très voisin du *Xystretum* non seulement par la problable fusion des coecums, mais aussi par la présence, chez *M. pulchra*, d'un vestige de striation, du reste absolument distincte de la formation, décrite par LINTON, à la face centrale, représentée par 3 à 4 lignes, situées de chaque côté, juste au-dessous del'acétabulum, et qui commencent sur le bord du corps pour disparaître plus en avant. Malheureusement l'espèce type du genre *Xystretum* n'a pas été décrite et dessinée d'une manière satisfactoire.

Quant au *X. papillosum* bien décrit et dessiné, la différence générique est parfaitement justifiable.

A défaut d'une bonne figure du *X. solidum*, j'ai tiré mes illustrations du *X. papillosum* (Fig. 22).

Le genre *Xystretum* a les suivantes espèces:

X. solidum LINTON, 1910, type.
X. papillosum LINTON, 1910.

Anaporrhutinae LOOSS, 1901.

Anaporrhutum OFENHEIM, 1900.

A. albidum BRANDS, 1900, type.
A. largum LUEHE, 1906.

Petalodistomum JOHNSTON, 1913.

P. polycladum JOHNSTON, 1913.

Staphylorchis TRAV., 1920.

Anaporrhutinae: corps plat, large; pharynx présent; coecums sinueux sans diverticules; vitellogènes intra-cécaux; testicules extra-cécaux, très petits et nombreux.

Espèce type: *S. cymatodes* (JOHNSTON, 1913).

Habitat: Dans la cavité générale de raies, Autralie.

JOHNSTON place cette espèce dans son genre *Petalodistomum*, mais moi je préfère faire de cette espèce un genre à part, parce qu'elle est plus voisine du genre *Anaporrhutum* que du genre *Petalodistomum*.

La disposition des coecums et des testicules me paraît suffisante pour caractériser un genre à part, car entre *Phylostomum* et *Catroptroides* et entre *Gorgodera* et *Gorgoderina* la différence est moindre.

Probolitrema LOOSS, 1902.

P. ricchiardii (LOPEZ, 1888). Type.
P. capense LOOSS, 1902.

Plesiochorus LOOSS, 1901.

P. cymbiformis (RUDOLPHI 1819) Type.
Callodistominae ODHNER, 1911.
Callodistomum ODHNER, 1902.
Callodistomum diaphanum ODHNER, 1902.

Prosthenhystera TRAV., 1920.

Callodistominae: ventouse orale sous-terminale; pharynx très réduit; coecums longs, minces, peu sinueux; bourse de cirre présente, ayant une petite vésicule séminale sans circonvolutions; testicules dans l'aire intra-cécale, équatoriaux, symétriques; ovaire pré-testiculaire, post-acétabulaire; vitellogènes pré-ovariens, dans l'aire intra-cécale et extra-cécale; utérus occupant toute l'extension du corps au-dessous du pore génital et envahissant l'aire extra-cécale à côté de l'oesophage jusqu'à la zone de la ventouse orale; vésicule excrétoire allongée, ample; oeufs avec une nette tache obscure, en forme de 8.

Espèce type: *P. obesa* (DIESING, 1850).

Habitat: Vésicule hépatique de *Salmonidae* de la vallée de Prata et de S. Francisco. Ce genre est très voisin du *Callodistomum*, dont il se distingue par la position intra-cécale des testicules, par l'intestin moins large et pas sinueux, et par la position de l'utérus, qui envahit dorsalment tout le corps, ne laissant li-

bre qu'une petite aire autour de l'oesophage.

P. obesa (DIESING, 1850).

(Fig. 23, 24, 26, 30—32)

Syn.: *Distomum obesum* DIESING, 1850 à p. 361.
Distomum obesum DIESING, 1855, p. 67, pl. III, fig. 11—13.
Distomum obesum DIESING, 1858e, p. 341.
Distomum obesum COBBOLD, 1860a, p. 24.
Distomum obesum COBBOLD, 1879b, p. 458.
Distomum obesum STOSSICH, 1886. p. 53.
Distomum obesum ODHNER, 1902 p. 152.
Posthenhystera obesa TRAVASSOS, 1920 (Soc. brés. des Sc., (Braz. Med. Ann. 36, p. 19, (1922)).

Longueur: 14 mm.; (3 à 7 mm.; DIESING); largeur 8 mm.; (2 à 5 mm.; DIESING). Corps ellipsoide, plat; ventouse orale sous-terminale, forte, mesure plus ou moins 1 à 1,2 mm. de diamètre; pharynx très petit, mesure plus ou moins 0,34 mm.; oesophage mince, mesure plus ou moins 1,3 mm. de longueur; coecums étroits, peu sineux, jusqu'a la zone acétabulaire ils sont plus larges que l'oesophage; mais à partir de là plus étroits; acétabulum pré-équatorial, fort, plus ou moins aussi grand que la ventouse orale, et mesurant plus ou moins 0,95 à 1,3 mm. de diamètre; pore génital médian, situé directement au-dessous de la bifurcation de l'oesophage; bourse de cirre constituée par un noyau musculeux, ellipsoide, transversée, en direction antéro-postérieure, par un étroit canal, dont le tiers postérieur montre une dilatation constituant la vésicule séminale; pénis semble manquer; la bourse mesure plus ou moins 0,6 à 1 mm.; de largeur sur 1,1 à 1,6 mm.; de longueur; testicules relativement petits, ronds, situés dans l'aire intra-cécale, et quelquefois partiellement dans l'aire cécale; ils sont équatoriaux, avec les zones coincidentes et en contact avec celle de l'ovaire; champs éloignés et en contact avec le champ ovarien; les testicules mesurent plus ou moins 0,60 à 0,78 mm. sur 0,52 à 0,59 mm.; ovaire rond, pré-testiculaire, avec la zone peu éloignée de la zone acétabulaire et avec le champ en contact avec celui de l'acétabulum; il mesure 0,87 sur 1 mm.; vésicule séminale présente dans la zone ovarienne; vitellogènes, disposés en deux demi-cercles renfermant l'acétabulum; ils commencent respectivement dans la zone ovarienne et dans l'aire intra-cécale, pour terminer dans la zone de la bourse de cirre et dans l'aire extra-cécale; ils sont constitués par des groupes de petits follicules; glande coquillière post-ovarienne; utérus, très développé, occupe toute la portion post-acétabulaire du corps; dans l'aire intra-cécale et pré-acétabulaire on trouve de grandes circonvolutions larges avec des oeufs mûrs; dans l'aire extra-cécale on trouve des circonvolutions bien au-dessus des vitellogènes, où elles sont moins nombreuses et atteignent la zone de la ventouse orale; oeufs ellipsoides, sans opercule apparente et montrant dans son intérieur une grande tache obscure à contours irréguliers, en forme de 8 ou de V; ils mesurent plus ou moins 0,063 à 0,070 mm. de longueur, sur 0,035 à 0,049 de largeur maximum; vésicule excrétoire allongée, ample, et en forme de Y à branches très courtes.

Habitat: Vésicule hépatique de: *Salminus brevidens* (« dourado») *Leporimus friderici, Xiphostoma cuviere,* mentionnés par DIESING; *Salminus brevidens, Leporinus sp.* (piaú).

Le matériel de DIESING fut cueilli par NETTERER en Matto-Grosso. Mon matériel consiste de 3 exemplaires, dont un complètement écrasé, le deuxième

aussi bien avarié, et le troisième en bon état. Le premier et le troisième furent cuellis sur « dourado » et sont beaucoup plus grands que l'autre, cuelli sur « piaú ». Ils furent cuellis à Porto Tibiriçá par les Drs. LUTZ, FONSECA & ARAUJO. Je possède aussi du matériel abondant cueilli sur «dourado» à Lassance, Minas Geraes, lequel m'a servi pour la description anatomique, que je donnerai maintenant. Récemment j'ai capturé deux beaux exemplaires grands sur *S. brevidens* dans le fleuve Cuyabá-Matto-Grosso.

Cuticule et musculature.—La cuticule est dépourvue d'épines et est relativement épaisse; elle est sensiblement plus épaisse à la face centrale qu'à la face dorsale. La musculature du corps, est forte, toutefois pas très forte. Directement au-dessous de la cuticule il y a une couche de fibres musculaires longitudinales et, au-dessous de cette couche, il y a une autre transversale. Des prolonguments de ces fibres pénétrent dans l'intérieur du corps, où ils forment quelquefois des faisceaux épais.

La musculature de la ventouse est forte, et la majorité des fibrilles est radiaire. Il y a aussi du revêtement musculaire dans les portions terminales des conduits génitaux.

Appariel digestif.—La ventouse orale n'est pas forte et est suivie directement par le pharynx sphérique et peu développé.

La ventouse possède dans son intérieur un très fort revêtement.

L'oesophage est mince, et possède intérieurement un très fort revêtement et extérieurement des fibrilles musculaires et de nombreuses cellules grandes, qui semblent avoir une fonction glandulaire. Directement après la bifurcation oesophagienne on trouve les coecums qui sont minces. Leurs parois se distinguent de celles de l'oesophage par l'absence des cellules extérieures et par la cuticule interne, qui est beaucoup plus épaisse et forme de nombreux plis papillaires.

Appareil reproducteur.—Les testicules, situés latéralement, se trouvent plus ou moins dans la même zone; de chacun d'eux part un canal qui se dirige obliquemment de l'extérieur à l'intérieur et d'arrière en avant, Les canaux se rencontrent un peu en avant de l'aire acétabulaire, où ils se réunissent et pénètrent dans la portion postérieure de la bourse de cirre.

La bourse de cirre est un organe sacciforme, à parois très épaisses. En realité elle n'est pas une bourse de cirre, mais seulement un organe homologue à celle-ci.

Elle est piriforme, ayant la dilatation plus grande dirigée en arrière, ou se trouve une ample cavité, pleine de spermatozoides, et constituant une vésicule séminale mâle; cette vésicule se communique postérieurement avec le canal déférent, et, antérieurement elle se continue dans un fort canal éjaculateur situé au pôle mince de la bourse. Ce ccanal est sineux à parois musculeuses, revêtu intérieurement par une forte cuticule, laquelle est un prolongement de la cuticule externe. En sortant de la bourse, le canal éjaculateur s'unit au vagin, en formant ainsi un canal unique, ou un atrium, de plus ou moins 160 *micra* de longueur sur 60 *micra* de largeur. Cet atrium possède, comme le canal éjaculateur, une forte cuticule, qui est la continuation de la cuticule externe. Il n'y a pas de cirre protactil. Ce dispositif ne se distingue de la *Gorgoderina parvicava* que par la musculature plus grande.

Le vagin, qui prend naissance dans l'atrium, possède une structure très semblable à celle du canal déférent. Il se dirige en arrière, ventralement par rapport à la bourse de cirre, en faisant divers courbes, et constitue ainsi, en s'élargissant, l'utérus. Les premières circonvolutions utérines, situées dans l'aire intracécale, sont grandes, et à parois plus

fortes, tandis que les dernières, en occupant toute l'aire intracécale et extracécale du corps, atteignent la zone pharyngienne, n'épargnant que le champ de la ventouse orale jusqu'à la bifurcation oesophagienne. Ses parois sont minces et faibles.

Les circonvolutions utérines occupent toute l'aire du corps, mais seulement à la face ventrale (figs. 31 et 32), tandis que la face dorsale est occupée par un faible parenchyme, et par la vésicule excrétoire. L'ovaire est situé medianement, et, en général, est bien moindre que les testicules. A'son côté il y a une vésicule séminale, bien moindre que lui, et la glande coquillière. Il y a un canal, de Laurer, qui s'ouvre dorsalement dans la zone ovarienne.

Les vitellogènes, constitués par des groupements bien séparés de follicules glandulaires, ont la structure commune et occupent une bande oblique, qui va dès la zone testiculaires jusqu'au dessus de la zone acétabulaire, et, en commençant dans l'aire intra-cécale, se termine dans l'aire extra-cécale. Le canal excréteur se dirige de dehors à dedans et d'avant en arrière.

Appareil excréteur.—La vésicule excrétoire est constituée par une grande cavité, pliée sur elle-même, de manière que ses parois forment des plis Cette cavité s'étend médianement jusqu'à la zone ovarienne, et présente des diverticules dans la portion antérieure. Ses parois sont fortes et garnies de quelques fibres musculaires.

Cholepotes ODHNER, 1911.

C. ovofarctus ODHNER, 1902.

Thaumathocotyle ODHNER, 1911.

Callodistominae à coecums courts; vitellogènes, pré-testiculaires, ont peu de follicules; testicules intra-cecaux, à champs éloignés et à zones coincidentes en partie, post-acétabuaires, et pré-équatoriaux; ovaire dans le champ du testicule postérieur et dans la zone du testicule antérieur; l'extrémité antérieure a une conformation péculière.

Espèce unique: *T. pulvinata* (BRAUN 1899).

Le nom générique est occupé par SCOTT, 1901. Dans ce sens j'ai écrit à M. ODHNER, mais je n'ai pas reçu de réponse. Je crois, toutefois, que le nom générique a déjà été changé.

Thaumatocolyle pulvinata (BRAUN., 1899).

(Fig. 24, 25, 27—29)

Syn: *Distomum pulvinatum* BRAUN, 1899 e, p. 630.
Distomum pulvinatum BRAUN, 1901 a, p. 24, fig. 18.
Distomum pulvinatum, ODHNER, 1902, p. 153.
Thaumatocotyle pulvinata ODHNER, 1911, Swedish zool. Exp. p. 20. text. f. a—d.

Longueur: 4 mm.
Largeur: 0,9 mm.

Corps aplati, l'extrémité antérieure est large et possue une conformation particulière; l'extrémité postérieure est acuminée; cuticule sans épines. L'extrémité antérieure présente, ventralement par rapport à la ventouse orale, et dorsalement et latéralement deux formations musculaires symétriques.

Ces formations (Fig. 27 et 28) sont représentées par des saillies musculaires, qui prennent naissance aux bords du corps, au niveau de la limite inférieure de la ventouse, et se dirigent en arrière et en avant (Fig. 27); elles sont courbées, antérieurement concaves et se réunissent à la face dorsale (Fig. 28). Ces formations limitent de chaque côté, dans sa concavité, un espace, simulant une pseudo-ventouse et limité, antérieurement par la ventouse orale, et par une saillie musculaire, située au bord de cette ventouse, interprétées par ODHNER comme un organe de fixation.

La ventouse orale mesure plus ou moins 0,47 mm.; de diamètre. Acétabulum pré-équatorial, transversalement allongé. et mesure 0,45 et 0,50 mm. de diamètre.

Pharynx relativement petit, suivant directement la ventouse orale, mesure 0,1 mm.; l'oesophage deux ou trois fois plus long que le pharynx; coecums courts outrepassant à peine l'équateur du corps. Pore génital médian, pré-acétabulaire; bourse de cirre pré-acétabulaire, possédant, dans son intérieur, une vésicule séminale, tubulée, une *pars prostatica* en forme de vésicule, et un cirre très court et fin; testicules sphériques, à champs éloignés et à zones coincidentes partiellement, pré-équatoriaux e immédiatement au-dessous de la zone acétabulaire; canaux déférents quelquefois très nets; ovaire elliptique, dans le champ du testicule droit; sa zone en contact avec celle du testicule du même côté, et coincident avec celle du testicule de l'autre côté; vitellogènes constitués par 8 à 9 follicules, qui s'étendent dès la zone acétabulaire jusqu'à la zone ovarienne, dans les aires cécale et intracécale; ces follicules sont munis de canaux excréteurs très nets, qui se réunissent en deux troncs transversaux, lesquels se terminent dans un réservoir médian; la vésicule séminale petite, située derrière l'acétabulum; utérus constitué par une portion descendante et une portion ascendante, qui se croisent sur la ligne médiane, intercécal dans la portion, où sont situées les coecums, et postérieurement à ces derniers, il s'étend jusqu'au bord du corps.

Oeufs ellipsoides à coque fine, et porteurs de miracidium. pourvu d'une forte tache oculaire (Fig. 29); ils mesurent 0,041 mm.; de longueur sur 0,023 mm. de largeur maximum; les *miracidia* des oeufs de la portion terminale de l'utérus sont déjà libres.

Vésicule excrétoire tubulée, atteignant le testicule antérieur.

Habitat: Tortues fluviales de l'Amazonas.

Cette espèce, décrite premièrement par BRAUN, qui l'a dessinée en 1901, a été étudiée, plus tard, par ODHNER, qui a corrigé la description de l'extrémité antérieure, et décrit la bourse de cirre, et la vésicule excrétoire, en en établissant un genre nouveau de la sous-famille *Callodistominae*.

Ma description et mes figures ont été tirées de celles de BRAUN et de ODHNER. Ni la localisation dans les hôtes, ni les noms scientifiques de ces derniers se trouvaient mentionés sur le matériel.

NOTE.

Isoparorchinae TRAV., 1920.

Corps ovoide; coecums sinueux; pore génital médian; pré-acétabulaire; pré-équatorial; testiccules ronds, directement au-dessous de la zone acétabulaire, pré-ovariens; ovaire cylindrique, post-équatorial, post-utérin; utérus n'a que peu de circonvolutions minces; vitellogènes ramifiés, post-ovariens, intra-cecaux et extra-cécaux; vésicule excrétoire avec deux branches, qui accompagnent les coecums.

Genre unique: *Isoparorchis* SOU THEWELL, 1914.

Habitat: Poissons de l'Asie.

Ce genre est synonyme de *Leptolecithum* KOBAYASHI, 1915.

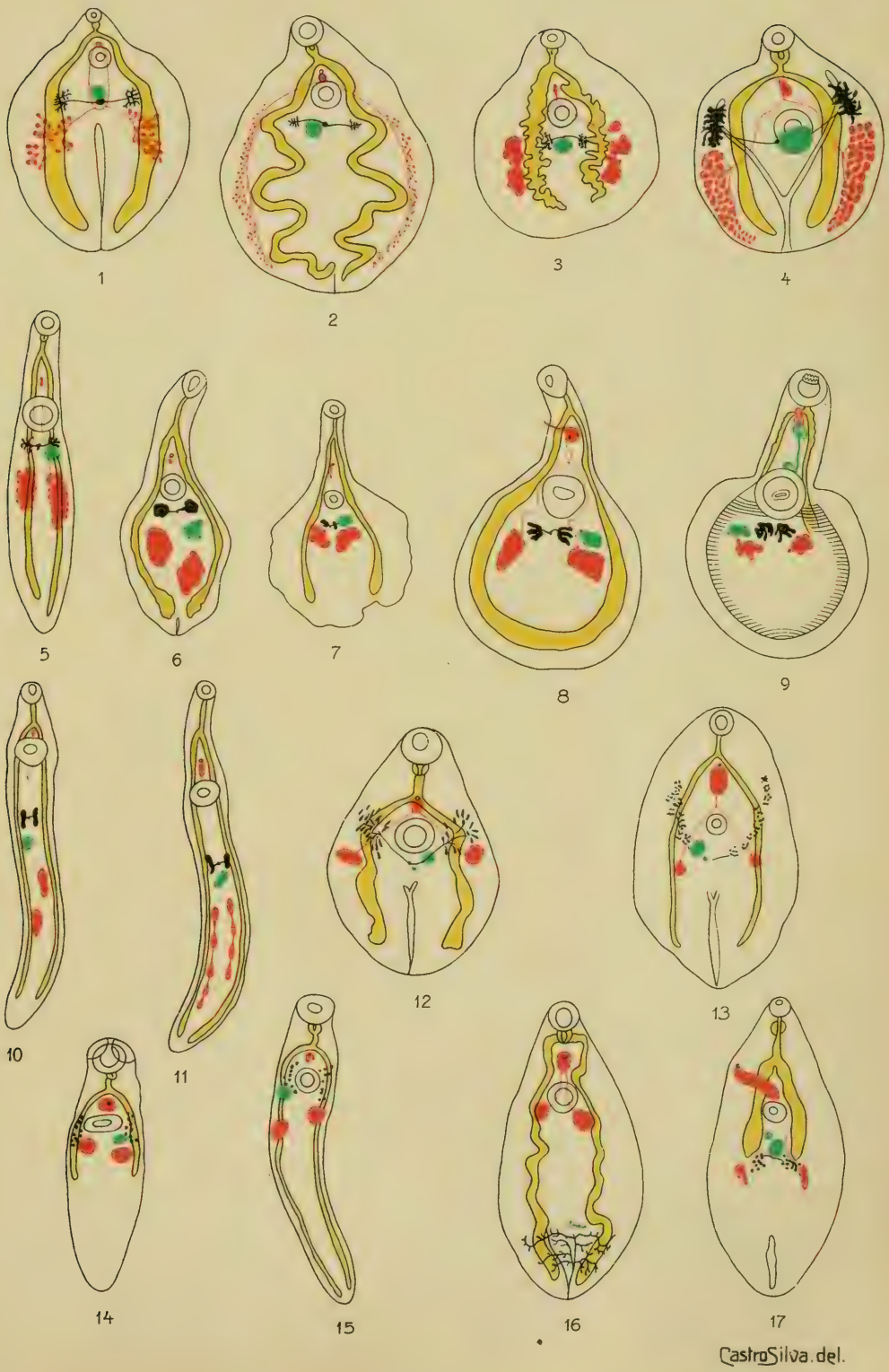
Le travail original de KOBAYASHI a été écrit en japonais, mais postérieurement a été publié en anglais dans le journal «Parasitology», permettant ainsi une complète identification des genres.

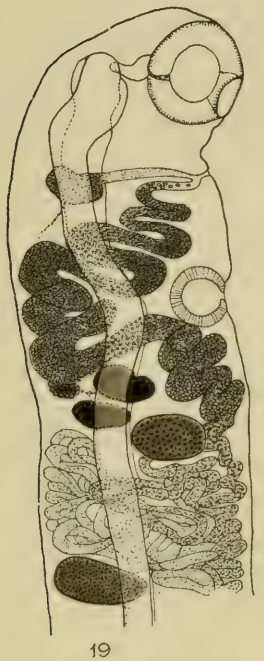
Ce genre a l'aspect des *Callodistominae*, mais la disposition et forme curieuses de l'ovaire, ainsi que la position du vitellogène montrent qu'il est un *Hemuiridae;* quant à la vésicule excrétoire, il me semble que SOUTHEWELL a considéré les deux lacunes principales comme en faisant part.

1. trisimilitubis SOUTHEWELL, 1914 (type).

1. eurytrema (KOBAYASHI, 1915).

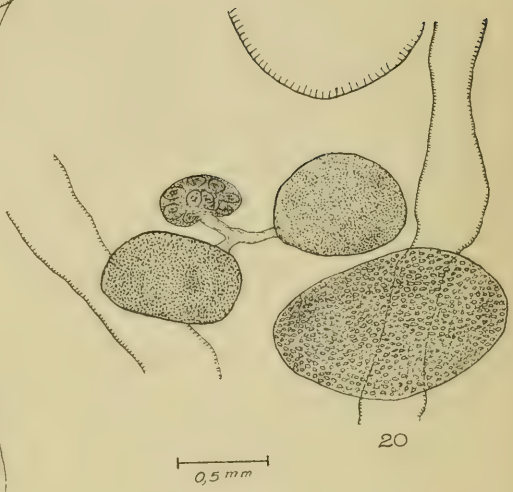
Je donne ici cette note, parce que dans mon travail antérieur j'ai cité cette sous-famille comme faisant part des *Gorgoderidae*.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
CastroSilva.del.

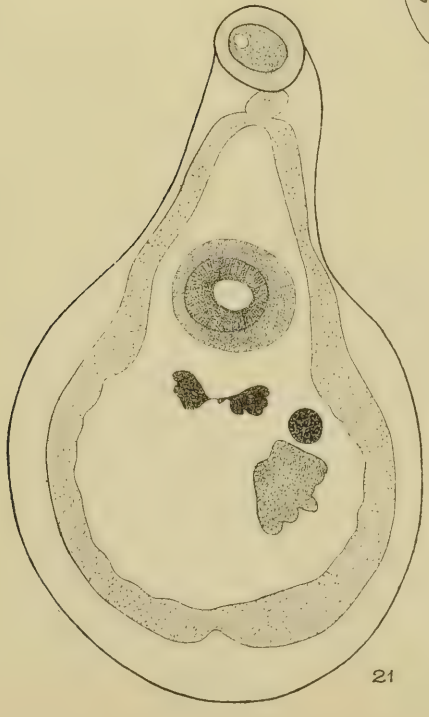


19

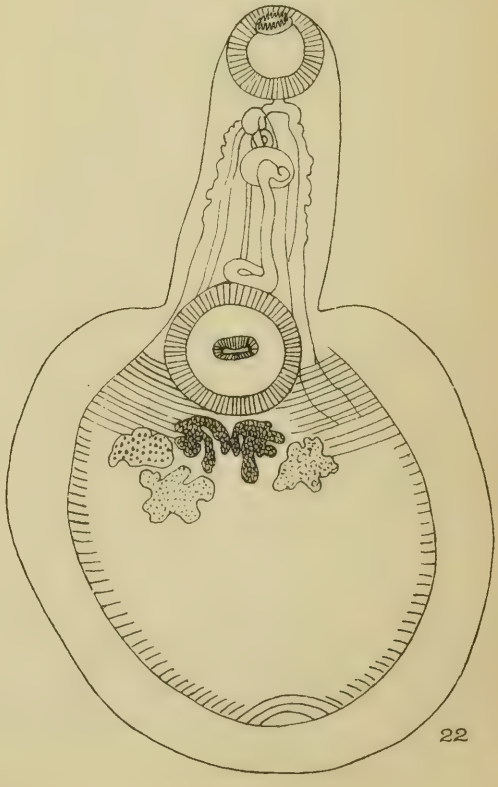
18



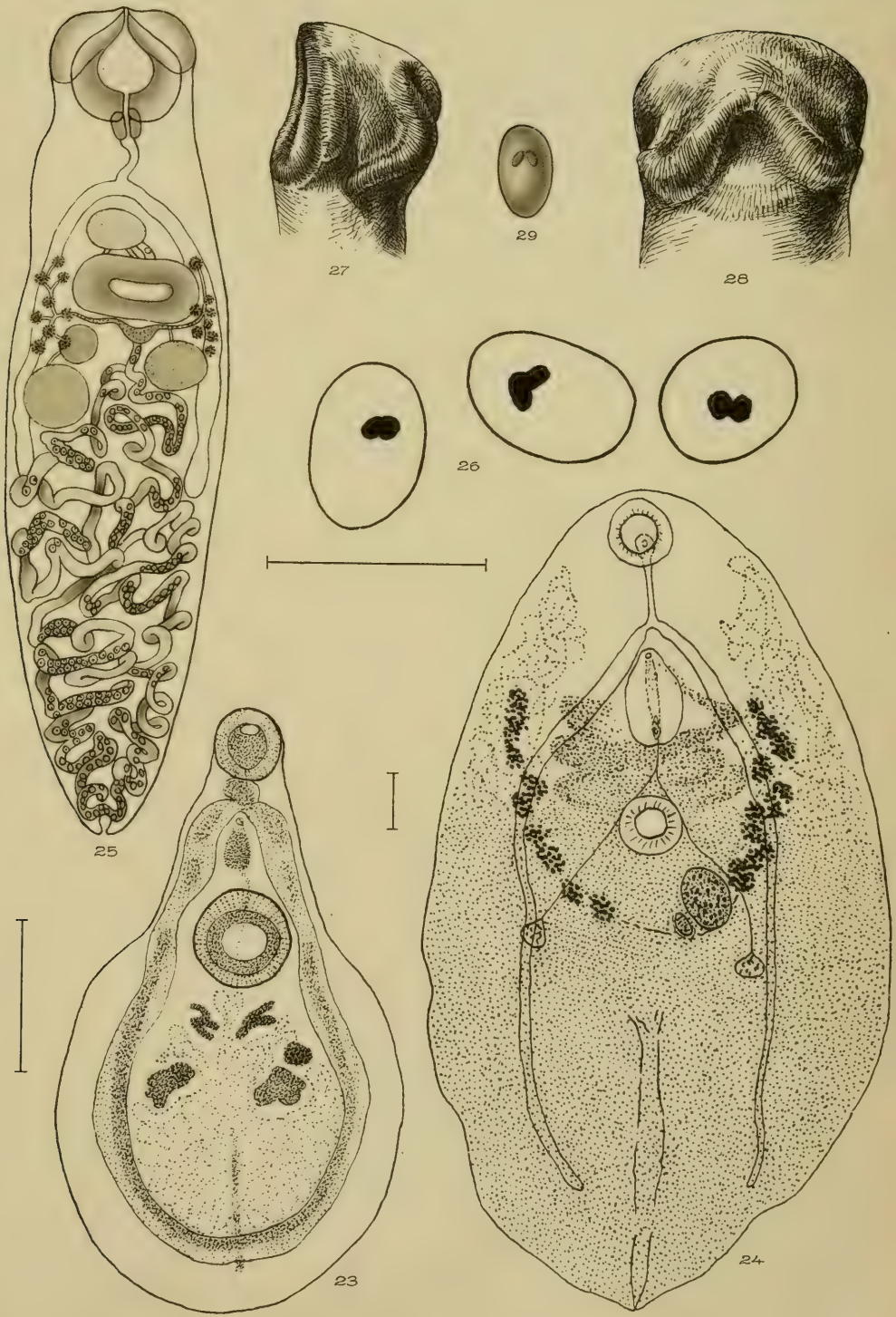
20



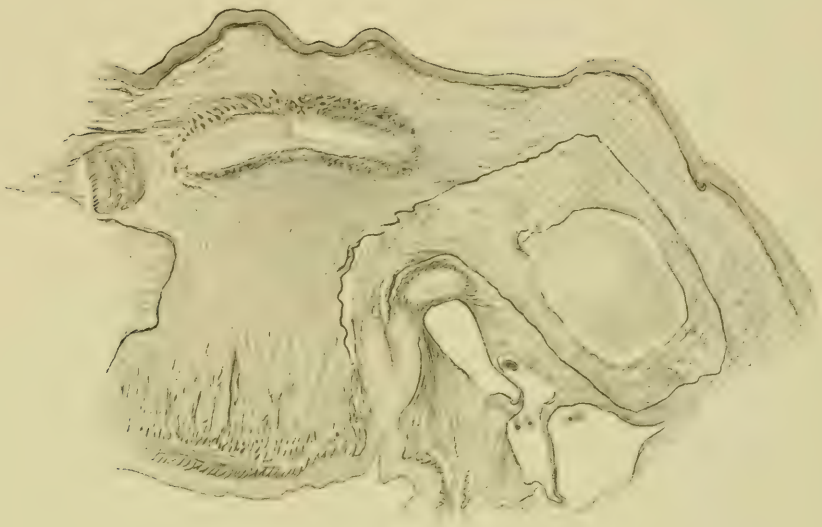
21



22



Porciuncula, Travassos, del.



30

31

32

Explication des figures.

Planche 26.

Fig. 1. Schème de Anaporrhutum.
« 2. « « Staphylorchis.
« 3. « « Petalodistomum.
« 4. « « Probolitrema.
« 5. « « Plesiochorus.
« 6. « « Phyllodistomum.
« 7. « « Caloptroides.
« 8. « « Macia.
« 9. « « Xystretum.
« 10. « « Gorgoderina.
« 11. « « Gorgodera.
« 12. « « Callodistomum.
« 13. « « Prosthenhystera.
« 14. « « Thaumatocotyle.
« 15. « « Cholepotes.
« 16. « « Isoparorchis.
« 17. « « Lecithostaphilum.

Planche 27.

Fig. 18. *Gorg. parvicava*—totale.
« 19. *Gorg. parvicava*—portion antérieure.
« 20. *Gorg. parvicava* — vitellogènes et glande coquillière.
« 21. *Macia pulchra* — Exemplaire anormal avec un seul testicule.
« 22. *Xystretum papillosum* — selon LINTON.

Planche 28,

Fig. 23. *Macia pulchra*—total (l'échelle correspond à 1 mm.)
« 24. *Prosthenhistera obesa?* total (l'échelle correspond à 1 mm.)
« 25. *Thaumatocotyle pulvinata* — selon BRAUN.
« 26. *Prosthenhystera obesa*—oeufs. (l'échelle correspond à 0,1 mm.)
« 27. *Thaum. pulvinata*—selon ODHNER, face latérale
« 28. Le même, face dorsale.
« 29. Le même, oeufs, selon ODHNER.

Planche 29.

Fig. 30. *Prosth. obesa*—Section longitudinale montrant la bourse de cirre, la vésicule séminale et l'ouverture génitale avec le confluent du vagin et du canal mâle. On voit aussi une section oblique de l'intestin.

FFig. 31. *P. obesa*—Section longitudinale montrant des sections de l'utérus, vésicule séminale femelle, canal de Laurer, vésicule excrétoire et une partie de l'acétabulum.

Planche 30.

Fig. 32. *Prost. obesa*—Section longitudinale ventro-dorsale, montrant de nombreuses sections utérines, disposées latéralement et ventralement *(ut);* bourse de cirre *(b. cirr.)* et ouverture des canaux déférents *(c. d.);* dans l'intérieur on voit la vésicule séminale *(v. s.);* segments de l'intestin *(int.),* quelques follicules des vitellogènes extra-cécaux et intra-cécaux *(vit.);* vésicule séminale femelle *(rec.);* gland coquillière *(gl. c.);* canal de Laurer *(c. l.);* ovaire *(ov.)* et vésicule excrétoire *(v. excr.).*

Elaps Ezequieli and Rhinostoma bimaculatum, new snakes from the State of Minas Geraes

by

ADOLPHO LUTZ, M. D. and OSWALDO DE MELLO, M. D.

(Instituto Oswaldo Cruz in Rio and Branch in Bello Horizonte)

Amongst the snakes collected by the Bello Horizonte Branch of the Institute Oswaldo Cruz 4 new species were discovered by Dr. OSWALDO DE MELLO. Two of them were described in the Folha Medica of 1922 (n. 13, p. 97); the descriptions of the other two follows here.

Elaps Ezequieli n. sp.

The only specimen of this kind, apparently a female, was collected in Caxambú, in 1919. The place is in the State of Minas.

The species belongs to the third group, division B, subdivision c, of the key given by *Boulenger* in the Catalogue of Snakes of the British Museum. In general appearance it comes near *E. Marcgravii* but has no anterior temporal, while the groups of rings are more numerous. There are three more species of *Elaps* since described by BOULENGER, viz: *Rosenbergi* (Ecuador), *Simonsi* (Argentine), *omissus* (Venezuela) and one by AMARAL, named *Elaps Fischeri*, from the *Serra da Bocaina* in the State of S. Paulo. (There are also some doubtful forms, mentioned in the *Biologia Centrali-Americana.)* Of those, only *Fischeri* and *Simonsi* come near to *Ezequieli*, but differ by anatomical characters: the presence of an anterior temporal and the symphyseal reaching the anterior chinshields. The following description of the new species shows the other affinities and differences:

Description: Eye half as long as its distance from the mouth. Rostral deeper than broad, the part seen from above a little longer than half its distance from the frontal. Internasals shorter than broad, as long as the prefrontals. Frontal longer than broad, shorter than the parietals which are not as long as their distance from the end of the snout. One preocular, in contact with the posterior nasal; two postoculars, the su-

perior somewhat larger. No anterior and one posterior temporal. 7 supralabials, the third and the fourth entering the eye, the former only in a point, the latter forming the whole of the lower margin; the sixth much larger than the others and reaching the parietal, the seventh well developed. Symphyseal not reaching the anterior chin shields. 4 infralabials in contact with the anterior chin shields which are shorter than the posterior ones. 15 rows of scales. 226 ventral shields and 22 subcaudal on each side. Anal shield divided.

Body reddish, showing 15 sets of black rings, disposed in three. The middle ring is much wider and separated from the others by unspotted white rings. The red rings between the sets are dotted with black on the upper, unspotted on the under side. In the first group there are only two well developed black rings, the first one being reduced to a few black spots.

The fore part of the head is black above with a crescent shaped white band, concave anteriorly and covering the prefrontals, also on each side the posterior nasal and second superlabial. Above it passes on the anterior margin of the frontal and the posterior of the internasals, laterally on the front margin of the supraocular, the fore half of the preocular and the fore margin of the third supralabial. Behind, the upperside of the head is red, dotted with black spots, two larger ones situated on the apex of the parietals. Below the head is red, dotted with black, the symphyseal and the first infralabials on each side entirely black. A narrow, unspotted, white ring separates the head from the body. Tail with black apex, the rest as on the body.

Total length 670, length of the tail 40 mm.

This species is dedicated to the memory of Dr. EZEQUIEL DIAS who founded and directed the Branch Institute in Bello Horizonte and established the prophylaxis of poisonous snakes and scorpions in the State of Minas.

Rhinostoma bimaculatum n. sp.

Maxillary teeth subequal, 10 + 2. Mandibulary teeth subequal. Eye small. Pupil vertically elliptic. Snout short with parabolic anterior outline, slanting upwards. Inferior plane of rostral longer than the superior which shows a blunt keel. Internasals broader than long and shorter than the prefrontals. Frontal longer than broad, equal to the distance from the end of the snout and to the length of the parietals. No frenal. One preocular much shorter than the supraocular, which is very narrow and half as long as the frontal; 2 postoculars. Temporals 2 + 2. 8 supralabials, third, fourth and fifth entering the eye, second and third touching the prefrontal. Four lower labials in contact with anterior chin shields, which are equal in length to the posterior ones. Scales smooth, with apical pits, forming 19 longitudinal rows. Ventrals 164. Anal undivided. Subcaudals 40 on each side (the last ones not distinct). Tail tapering.

Body above reddish; just behind the neck, two spots of 5 mm. in width and 10 in length, consisting of 4—5 rows of blackish scales, separated by the median row. Scales of the back with apex infuscate. Belly, 3—4 rows of lateral scales and supralabials altogether white. Colouring of the tail equal to that of the body.

Total length 510, length of the tail 75 mm.

Collected in Pirapora, State of Minas Geraes, in the collection of the Branch Institute in Bello Horizonte.

This species is separated from *guianense* and *vittatum* by lacking a frenal. It stands near to *Iglesiasi* but differs by

having 3 supralabials entering the eye and 2 anterior temporals.

Follows a list of the differential characters in the 4 species of the genus *Rhinostoma*.

	Iglesiasi	bimaculatum	vittatum	guianense
Rostral	no keel	keel present	keel present	
Frenal	none	none	present	present
Temporals	1+2	2+2	2+3	2+3
Internasals	as long as broad	broader than long		
Frontal	as long as broad, shorter than parietals	longer than broad, as long as parietals		
Preocular	nearly equal to supraocular	much smaller		
Supralabials in contact with eye	4th, 5th	3d, 4th, 5th	4th, 5th	4th, 5th
Head	with dark spots	no spots		
Ventrals	169	160	199—226	168—209

Rio de Janeiro, 10—XI—922.

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

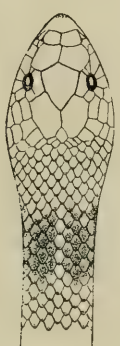


Fig. 5

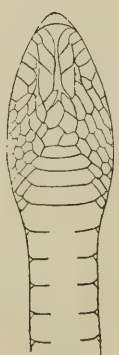


Fig. 6

Fig. 7

Explanation of drawings.

Fig. 1-4—*Elaps Ezequieli.*
Fig. 1—Dorsal view.
Fig. 2—Lateral view.
Fig. 3—Ventral view.
Fig. 4—Ventral view of tail.
Fig. 5-7—*Rhinostoma bimaculatum.*
Fig. 5—Dorsal view.
Fig. 6—Ventral view.
Fig. 7—Lateral view.

BIBLIOGRAPHY.

1) BOULENGER, 1896— Catalogue of Snakes of the British Museum.

2) BOULENGER, 1898— Elaps Rosenbergi, in Proc. Zool. Soc. London, p. 117.

3) BOULENGER, 1902— Elaps Simonsi, in Ann. Mg. Nat. Hist., s. 7, v. 9, p. 338.

4) BOULENGER, 1920— Elaps omissus, in Ann. Mg. Nat. Hist. s. 9, v. 6, p. 108.

5) AMARAL, 1921— Elaps Fischeri, in Annexos das Memorias de Butantan, v. 1, fasc. I, p. 15.

6) GUENTHER, 1902— Biologia Centrali Americana.

7) GOMES, FLORENCIO, 1915— Rhinostoma Iglesiasi, in Collectanea dos Trabalhos de Butantan de 1901—1917, p. 270.

Études sur les Blastocystis

par le

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

Chef de service

L'opinion de la plupart de ceux qui se dédient a l'étude des parasites intestinaux est encore incertaine en ce qui concerne ces formations d'une si curieuse structure connues sous le nom de *Blastocystis* que leur donna ALEXEIEFF en 1911.

Ces parasites, connus depuis longtemps, ont reçu les interprétations les plus variées des différents auteurs qui les observèrent. C'est ainsi qu'on les considéra comme formes d'évolution, d'encystement, d'autogamie ou de dégénération de différents flagellés intestinaux, comme par exemple *Trichomonas, Bodo, Heteromita* etc. (PERRONCITO, KUNSTLER, SCHAUDINN, PROWAZEK, UCKE, CHATTON). D'autres (DOBELL, ALEXEIEFF, BRUMPT) le considèrent comme des champignons. Un troisième groupe ne lui accorde aucune spécificité, admettant qu'on a affaire à des formes d'encystement ou de dégénération d'amibes et d'autres parasites des selles (SWELLENGREBEL, JEPPS et DOBEL) et il y a encore ceux qui n'ont aucune opinion formée à ce sujet.

De toutes ces interprétations celle qui est destinée a prévaloir et qui est aujourd'hui la plus généralement admise considère les *Blastocystis* comme des organismes végétaux entièrement autonomes et du groupe des blastomycètes, avec un cycle tout particulier, et sans aucun rapport avec les flagellés et d'autres parasites rencontrés d'ordinaire dans les selles.

C'est ALEXEIEFF en 1911, qui, le premier, appuya cette opinion sur de solides arguments. Il se fondait sur les résultats obtenus par ses études sur les *Blastocystis* de *Triton marmoratus, Triton cristatus* et de *Salamandra maculosa.*

Les travaux d'ALEXEIEFF, quoique très accomplis, n'obtinrent pas la facile confirmation qu'on aurait pu attendre dans le cas d'un parasite si commun et c'est pour cela que cette question resta assez obscure et imprécise.

La rareté relative des différentes pha-

ses d'évolution du parasite dans le matériel qu'on examine ordinairement, ainsi que le fait qu'on étudie plus souvent les *Blastocystis* de l'homme et des animaux à sang chaud, dont la morphologie et l'évolution, à cause du milieu, son moins typiques que celles des formes analogues d'animaux à sang froid en seraient, selon nous, la cause.

Voilà pourquoi il ne sera possible de faire une étude parfaite de ces parasites qu'à condition d'examiner comparativement le matériel de différents animaux à sang chaud et à sang froid et d'avoir l'occasion de surprendre certains phases d'évolution rarement observées.

C'est grâce à l'étude d'un matériel abondant et varié que nous avons pu vérifier les faits signalés par ALEXEIEFF en les confirmant et, même, sur certains points en les complétant.

Dans ce travail, nous faisons une étude générale des *Blastocystis*, en nous occupant tout spécialement de la morphologie et de l'évolution de ceux de *Rana esculenta* que nous avions observées il y a longtemps à Munich à l'époque où nous fréquentions l'Institut Zoologique sous la savante direction de RICHARD HERTWIG.

Depuis nous avons eu plusieurs occasions d'étudier le sujet dont nous nous proposons de compléter l'exposé dans un deuxième travail.

Généralités.

Les *Blastocystis* sont très communs et quelquefois même extrêmement abondants dans les animaux parasités, mais il est assez rare de trouver toutes les phases d'évolution et surtout celles de sporulation dans un même animal.

Les *Blastocystis* vivent dans l'intestin des animaux, surtout dans la portion terminale. Il est intéressant d'observer la variété de grandeur qu'ils peuvent présenter suivant les conditions du milieu. D'une façon générale les *Blastocystis* sont plus petits dans les selles solides que dans les liquides et aussi d'une taille plus réduite ainsi que d'une structure moins typique chez les animaux à sang chaud que dans les animaux à sang froid. C'est pourquoi nous n'attachons aucune valeur spécifique aux différences de grandeur observées et qui vont fréquemment du simple au double et davantage, soit dans le même animal, soit d'une espèce à l'autre. Ce n'est pourtant qu'après une étude plus approfondie qu'on pourra parvenir à une conclusion définitive à ce sujet. Il nous semble qu'en attendant une meilleure observation de ces parasites, il serait trop tôt pour tenter de résoudre cette question. C'est pourquoi nous ne voyons auccune raison pour admettre 3 espèces différentes (*enterocola, gemmigena* et *sporogyna*) chez l'homme comme l'a proposé tout dernièrement LYNCH dans un travail qui ne nous paraît très concluant.

L'étude des *Blastocystis* devra se faire comparativement dans du matériel et des préparations fixées et colorées.

L'éxamen à frais doit être fait entre lame et lamelle ou de préférence en goutte pendante qui a l'avantage de ne produire aucune altération dans la morphologie du parasite comme le fait le premier de ces moyens. Les préparations colorées doivent être faites en fixant au sublimé-alcool et en colorant a l'hématoxyline de HEIDENHAIN des minces frottis du matériel.

Les préparations colorées sont celles qui revèlent le mieux les delirats détails de l'estructure du parasite. Les préparations faites a l'hématoxyline de DELAFIELD ou au GIEMSA n'offrent pas de résultat plus satisfaisant que celles à l'hématoxyline de HEIDENHAIN.

Pendant longtemps les parasitologistes qui étudiaient le *Blastocystis* étaient réduits a l'éxamen du matériel venu di-

rectement des animaux infectés. Cependant tout dernièrement BARRET a obtenu des cultures de *Blastocystis* en milieu liquide. Ce milieu se compose d'une solution à 1/2 % de sérum humain inactivé en solution physiologique a 5%. Le milieu de culture est placé dans des tubes étroits qu'on ensemence en déposant avec précaution à l'aide d'une pipette stérilisée un peu du matériel contenant les *Blastocystis* au fond du tube. Les cultures sont faites à la température du laboratoire.

Les observations que nous avons faites en suivant la methode de BARRET nous confirma entièrement la possibilité d'obtenir des cultures de *Blastocystis* quelquefois très abondantes par ce procédé. Cependant, jusqu'ici, la méthode ne nous a apporté aucun avantage en ce qui se rapporte a l'étude de la structure et de l'évolution du parasite. Dans les cultures on n'observe aucune transformation des *Blastocystis* en flagellés mais elles montrent des formes dégénérées qui rappellent celles qui ont été décrites par Linch comme des espèces nouvelles des *Blastocyctis* Il est possible, cependant, que les cultures puissent encore être avantageuses surtout pour l'étude des formes d'évolution.

Les *Blastocystis* sont trouvés en quantité très variable dans les hôtes qu'ils parasitent. Ils ne semblent pourtant absolument les nuire. Ils deviennent quelquefois très abondants dans les états diarrhéiques et dysentériques où le milieu devient favorable a leur prolifération.

Morphologie et évolutiou des Blastocystis.

Les formes caractéristiques les plus communes des *Blastocystis* trouvées dans les animaux qu'ils parasitent sont les kystes primaires. Ces kystes examinés à l'état frais et en goutte pendante sont ronds et de dimensions très variables, puisqu'ils mesurent de 6 a 40 micra de diamètre; ils sont jaunâtres ou entièrement incolores.

Les cystes primaires présentent trois portions entièrement distinctes; la partie interne ou corps interne d'ALEXEIEFF, la couche moyenne ou protoplasmique et une couche périphérique de substance mucilagineuse.

Le corps interne est constitué d'une portion homogène contenant quelquefois des masses irrégulières d'une substance extrêmement sidérophile (Pl. 32, Fig. 12 et 12a); dont les réactions microchimiques font supposer qu'elles soient du paraglycogène. Le corps interne est en grande partie composé de substance de nature glycogénique jouant le rôle de matériel de réserve necessaire aux phases d'évolution ultérieures des *Blastocystsi*, surtout à l'occasion de la formation des kystes secondaires.

Le corps interne est normalement incolore, cependant quelquefois il peut se présenter avec des nuances jaunâtres ou même verdâtres.

Dans les préparations à l'hématoxyline de HEIDENHAIN, le corps interne se colore plus ou moins intensement d'une nuance grise; quelquefois cependant, il retient fortement la matière colorante et devient noirâtre. Les masses de paraglycogène qu'on observe dans le corps interne des *Blastocystis* sont toujours très sidérophiles et sont pour cette raison très visibles dans les préparations (Pl. 32, Fig. 12 et 12a et Pl. 33, Fig. 15, 18 et 20).

Le corps interne est entouré d'une couche protoplasmique finement alvéolaire, plus épaisse en certains points que dans des autres et surtout au niveau des noyaux. Dans le protoplasme on voit des granulations de volutine. La couche protoplasmique s'adapte parfaitement au corps interne et ce n'est que rarement (Pl. 32, Fig. 12a) qu'on voit le corps interne se contracter

a l'intérieur de son enveloppe protoplasmique.

Les noyaux des *Blastocystis*, dont le nombre varie de 1 à 32, se trouvent toujours dans la couche protoplasmique, soit groupés deux à deux, soit placés en des points opposés ou encore disséminés sur toute la surface du parasite lorsqu'ils sont très nombreux.

La structure du noyau des *Blastocystis* est très caractéristique, comme l'a signalé ALEXEIEFF, ils se composent d'une calote de chromatine excentriquement placée et séparée par une zone claire du reste de la substance nucléaire, moins compacte, moins colorable et moins abondante. Le noyau ne possède pas de membrane et se trouve placé dans une zone plus claire du protoplasme; il se rapproche par sa structure bien plus des noyaux des champignons que de ceux de n'importe quel protozoaire du groupe des flagellés.

Autour de la couche protoplasmique des *Blastocystis*, on voit à frais une couche de substance mucilagineuse. Cette couche de substance mucilagineuse, ne peut être colorée mais peut être a perçue, à frais, par la limite qu'elle établit entre les *Blastocystis* et le matériel en suspension dans le liquide entourant les cellules du parasite. Quelquefois même, une couche complètement incolore révèle, dans les préparations colorées, l'existence de cette zone de substance mucilagineuse, hyaline, observée dans les *Blastocystis* et également vérifiée dans d'autres champignons, surtout chez ceux adaptés à la vie parasitaire, comme le *Saccharomyces tumefaciens albus*, par exemple.

Les trois parties dont se composent les cystes primaires y sont toujours présentes (Pl. 32, Fig. 2—12). Seules les premières phases de l'évolution des kystes primaires (Pl. 32, Fig. 1) se présentent dépourvues de corps interne, parce qu'à ce moment il n'y a pas encore eu d'accumulation de la substance de réserve dont est formé cette structure du *Blastocystis*.

Division des Blastocystes. (Plasmotomie)

A propos de la division des kystes primaires, il nous faudra distinguer la division de la cellule et celle des noyaux. La division cellulaire s'effectue par un processus de plasmatomie déjà signalé par divers auteurs et interprété de différentes façons. Quelques uns de ces auteurs croient que la plasmatomie est le seul processus de division des *Blastocystis*. Elle est, en effet celui qui est observé le plus fréquemment.

Le processus plasmatomique se compose d'une division binaire, quelquefois assez inégale du *Blastocystis*. Le processus débute par le changement de forme de la cellule, qui devient elliptique (Pl. 32, Fig. 5 et 11) en devenant de plus en plus allongée. Au centre il ne tarde pas à apparaître un petit rétrécissement qui s'accentue peu à peu et amène finalement un étranglement complet du protoplasme et du corps interne. De cette façon se séparent deux nouveaux *Blastocystis* qui reconstituent immédiatement les portions altérées par le processus plasmatomique pour reprendre l'aspect typique du parasite.

Il faudra éviter de confondre le processus que nous venons de décrire avec les déformations subies par le corps des *Blastocystis* sous l'influence de la pression, tout spécialement dans les préparations entre lame et lamelle.

La signification du procéssus de division plasmatomique des *Blastocystis* reste encore obscure. Il n'est pas impossible qu'il se rattache à un phénomène sexué, qui se passerait dans la cellule, comme le pense ALEXEIEFF mais il manque encore des éléments pour juger de cette question.

Les formes plasmatomiques sont tantôt rares, tantôt très abondantes dans

le matériel examiné. La division plasmatomique s'effectue généralement dans les kystes à deux et à quatre noyaux. Ceux-ci ne souffrent aucune modification et ne paraissent prendre part dans le processus que pour passer en nombre égal dans les nouveaux *Blastocystis* à la fin du processus plasmotomique.

Division nucléaire.

La division nucléaire des *Blastocystis* commence dès les premières phases de végétation de la spore et se continue jusqu'au début de la phase de sporulation du parasite. Pour cette raison est-il rare de trouver des *Blastocystis* avec un seul noyau. Ce noyau initial (Pl. 32, Fig. 1 et 2) se divise ultérieurement en donnant fréquemment des formes a 8, 16 et 32 noyaux.

Le processus de division nucléaire des *Blastocystis* est assez simple. Il débute par un allongement de la calotte chromatique du noyau (Pl. 32, Fig. 9), qui prend la forme d'un bâtonnet légèrement recourbé. En même temps que s'allonge la substance chromatique du noyau, la portion moins colorable s'allonge aussi, en formant un petit arc à ouverture opposée au premier. Ensuite se produit la division de la substance chromatique du noyau, dont les éléments vont former deux petites calottes opposées; entre elles se place la portion moins colorable du noyau (Pl. 32, Fig. 9a). Dans une phase plus avancée du processus cette substance moins colorable se divise; chaque moitié se rapproche alors de la calotte qui lui est la plus rapprochée (Pl. 32, Fig. 8) et bientôt les deux nouveaux noyaux se trouvent parfaitement réconstitués (Pl. 32, Fig. 9 et 10).

Les différentes phases de division que nous venons de décrire sont parfaitement visibles dans la première segmentation nucléaire mais deviennent moins perceptibles dans les autres (Pl. 32, Fig. 12a), en raison de la grandeur décroissante des éléments. A mesure que les noyaux se multiplient, le *Blastocystis* croît aussi, surtout par augmentation de la substance de réserve du corps interne., Les divisions nucléaires portent souvent le nombre des noyaux du *Blastocystis* à 16 età 32, dont chacun devra faire partie d'un kyste secondaire, dont nous passons a étudier la structure.

Formation des kystes secondaires.

Un des processus les plus intéressants et les plus rares dans l'évolution des *Blastocystis* est la formation de kystes secondaires, à cause des phénomènes cellulaires et nucléaires qu'on y observe. La formation de ces kystes est parfaitement comparable à la sporulation de certains saccharomycètes. Quoique rare, la formation de kystes secondaires quand une fois elle s'opère, est abondante dans tout le matériel, de façon que toutes les phases sont observées sans difficulté, tant dans les préparations à frais, comme dans les préparations colorées.

Les phénomènes de la formation des kystes secondaires débutent par la multiplication des noyaux du *Blastocystis* et ont lieu dans les formes à 8—32 noyaux, dont la grandeur est proportionelle au nombre d'éléments qui y existent. Ces noyaux se trouvent plus ou moins régulièrement distribués au sein du protoplasme des *Blastocystis*. Ensuite on observe dans le protoplasme autour de chaque noyau jusqu'ici homogène des petites granulations sûrement formées aux dépens du matériel fourni par le corps interne qui commence alors à diminuer (Pl. 32, Fig. 15).

Ces corpuscules ne paraissent pas s'originer des noyaux de la cellule comme de vrais mitochondries; les noyaux joueraient plutôt le rôle de centres d'attraction dans leur apparition. Le nombre de granulations qui s'accumulent au-

tour de chaque noyau est très variable (voir Pl. 33, Fig. 15 et 16). L'apparition de ces granulations dans le protoplasme marque le début la formation de cystes secondaires, puisqu'aussitôt qu'ils apparaissent, on observe que le protoplasme des *Blastocystis* jusqu'alors uni, se fragmente en des masses polygonales (Pl. 32, Fig. 16), contenant chacune un noyau et un nombre variable de granulations. Le corps interne se trouve déjà presque entièrment raréfait, commes si sa substance s'était passée sous la forme des granulations précédemment décrites, dans les ilôts de protoplasme qui se sont formés dans la couche protoplasmique du parasite.

Ces ilôtes de protoplasme ne tardent pas à perdre leur aspect polygonal primitif, en s'arrondissant et s'isolant entièrment les uns des autres. Leur aspect est alors très caractéristique; ils présentent au centre un noyau, des granulations (mitochondries, suivant ALEXEIEFF) en nombre variable, placées périphériquement dans les mailles d'un fin réticulum. Avec la disparation de la substance qui constituait le corps interne à cette occasion complète, la cellule devient flacide, elle se déforme et présente un aspect mammilonée, comme s'il y aurait un procès de gemmulation (Pl. 33, Fig. 20 et 21). Dans une période plus avancée les kystes s'individualisent complètement; les granulations s'appliquent à leur périphérie sous la forme de petits bâtonnets et il se forme une membrane. qui les entoure. Ces petits kystes secondaires demeurent complètement isolés et à peine maintenus au commencement à l'interieur d'un fin sac membraneux, dernier vestige de la délicate membrane du *Blastocystis* primitif (Pl. 33, Fig. 26 et 27). Une fois rompue la membrane qui enveloppe les cystes secondaires, ceux-ci deviennent complètement libres et isolés en petits groupes (Pl. 33, Fig. 23 et 24).

Les kystes secondaires complètement formés mesurent 5 a 6 micra de diamètre; ils sont alors plus petits et moins riches en granulations qu'avant leur développement complet.

Le noyau maintieu chez quelques uns son aspect typique, tandis que chez d'autres il se fragmente et, probablement dégénère (Pl. 33, Fig. 22).

La formation de kystes aurait lieu, suivant ALEXEIEFF, en 10 à 17 minutes, mais nous ne sommes jamais parvenus à la voir en si peu de temps.

Les kystes secondaires sont des formes de résistance des *Blastocystis* et ils se forment comme nous venons de le voir, par un processus analogue à celui de la constitution des ascospores chez certains schizosaccharomycètes *(Schizosaccharomyces octosporus)*. La membrane hyaline qu'ils possèdent et qui n'est pas visible généralement dans les préparations colorées, les protège dans le milieu extérieur quand ils sortent de l'intestin de l'animal parasité.

WENYON et O'CONNER ont vu une seule fois chez l'homme une forme de division multiple de *Blastocystis* qui n'a cependant rien à voir avec le processus ci-dessus décrit, puisque dans la reproduction graphique de la forme qu'ils ont vue, ces auteurs nous montrent un kyste plein de petits kystes primaires, tous avec leur corps interne et divers noyaux, ce qui ne correspond pas à la forme classique des *Blastocystis*. Les formes de sporulation mentionnées et dessinées par LYNCH ne paraissent pas avoir une signification très précise, ainsi que celles décrites par FLU et qui ressemblent plus à des kystes primaires dégénerés et mal fixés qu'à des vraies formes de sporulation des *Blastocystis*.

L'évolution ultérieure des kystes secondaires n'est pas aisée à suivre. L'examen de notre matériel nous porte à croire que dans l'intestin de l'animal déja parasité ou d'un autre indemne qui les ingère, ils se transforment de nouveau en kystes primaires.

Cette transformation est amenée par

les changements suivants dans le kyste secondaire; absorption et disparition des granulations et des réticula qui existaient dans la spore; celle-ci devient homogène et présente un seul noyau et une membrane hyaline très visible (Pl. 32, Fig. 1). Dans cette phase le cyste augmente sensiblement de volume. Dans une phase plus avancée de son évolution commence la formation du corps interne et alors le *Blastocystis* se trouve déja avec sa mince couche protoplasmique et avec tout l'aspect d'un kyste primaire mais encore uninuclé (Pl. 32, Fig. 2). Le noyau de la forme antérieure ne tarde pas à se diviser (Pl. 32, Fig, 3) et il y a lieu dans le protoplasme du *Blastocystis* à la migration de ces éléments a des points opposés (Pl. 32, Fig. 3 et 4), ce qui amène l'apparition des formes les plus caractéristiques du parasite, les kystes primaires typiques.

L'évolution des *Blastocystis* telle que nous venons de la décrire, est celle qui nous parait la véritable et d'accord avec les faits signalés avec tant de précision par ALEXEIEFF. Dans ce cycle il n'est question d'aucune phase flagellée. Nous croyons que les auteurs qui les auraient vues, aient eté amenés à cette erreur par la coexistence de plusieurs parasites dans le matériel ou peut-être on aurait affaire à une infestation du *Blastocystis* par un parasite qui lui serait propre, comme, selon notre avis, il parait être arrivé à quelques uns des auteurs qui ont décrit des phases flagellées dans l'évolution du *Blastocystis*.

On ne peut non plus méconnaître une certaine ressemblance, entre les différentes phases de formation des kystes secondaires et le processus de multiplication d'*Amœba histolytica*, décrit par SCHAUDINN dans son mémorabe travail sur les amibes pathogènes de l'homme. Le procéssus de bourgeonnement chez *Endamœba histolytica* ressemble bien à celui de la formation de spores chez *Blastocystis*, les petits cystes de *l' Endamœba* décrits par le regretté savant allemand étant comparables aux spores du *Blastocystis*.

L'observation est rendue surtout difficile par les autres protozoaires et végétaux inférieurs qui habitent avec le *Blastocystis* l'intestin des animaux et qui se prêtent aux confusions qui ont été si souvent faites par les auteurs qui s'en sont occupés. L'irrégularité avec laquelle s'accomplit l'évolution dans les différents animaux et la rareté des phases si intéressantes de sporulation concourent aussi a difficulter l'étude de ce sujet.

Conclusions.

1o

Les *Blastocystis* trouvés dans les différents animaux à sang chaud et à sang froid ne sont pas de formes d'évolution de flagéllés ni de n'importe quel autre parasite animal ou végétal de l'intestin.

2o

Les *Blastocystis* sont des végétaux parasites différenciés par le parasitisme, mais plus rapprochés de certains blastomycètes et surtout des saccharomycètes pathogéniques.

3o

La multiplication des *Blastocystis* a lieu par deux procès différents: celui de plasmotomie, se passe dans les cystes primaires et l'autre, de sporogamie à l'intérieur d'une espèce d'ascospore dont résultent les formes de résistance du parasite. Il est possible qu'avant le commencement de la sporulation il se passe des phénomènes séxués semblables à ceux qu'on connaît chez certains saccharomycètes.

4o

Autant que nos connaissances au

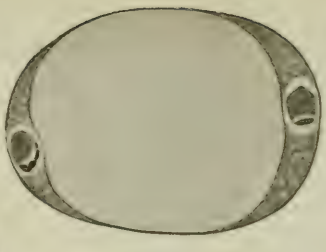
sujet de la morphologie et biologie des *Blastocystis* nous permettent d'en juger, l'existence de plusieurs espèces de ce parasite ne paraît pas bien établie.

5°

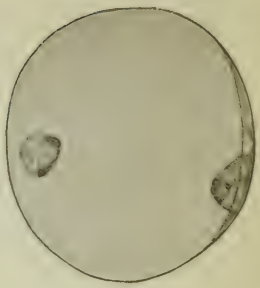
Les *Blastocystis* n'ont aucune action pathogénique sur les organismes qu'ils parasitent et chez l'homme on n'observe aucun rapport entre leur présence et n'importe quel état morbide. Ils doivent selon nous être envisagés comme un parasite banal de l'intestin.

1

2

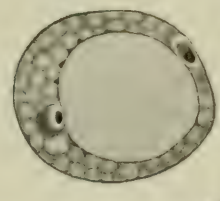


5



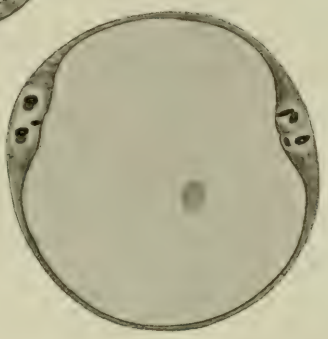
6

3



4

7

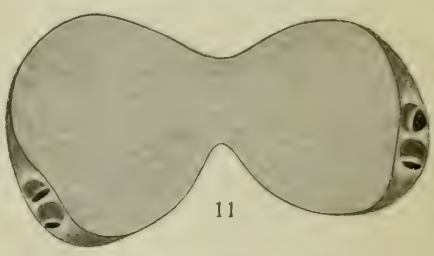


8

9

9a

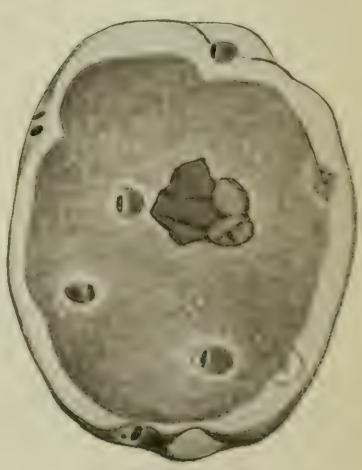
10



11

12

13



12a

Explication des figures.

Dessins faits avec la chambre claire à l'hauteur de la platine du microscope, et en utilisant l'objectif d'immersion homogène de 2 mm.; et de l'oculaire compensatéur 12. Longueur du tube, 16. cm.

Pl. 32

Fig. 1. Forme initiale d'évolution d'un kyste primaire sans vacuole

Fig. 2. Cyste primaire avec un seul noyau et vacuole.

Figs. 3—10. Différentes phases de l'évolution de cystes primaires.

Fig. 11. Kyste primaire en phase de plasmotomie.

Fig. 12. Kyste primaire avec une masse sidérophile à l'intérieur.

Figs. 12—13. Kystes primaires avec beaucoup de noyaux dans une phase antérieure à la formation de kystes secondaires.

Pl. 33

Fig. 14. Kystes primaires avec 12 noyaux disséminés dans le protoplasme.

Fig. 15. Début de la formation des kystes secondaires. Apparition des granulations dans le protoplasme autour des noyaux.

Figs. 16—22. Différentes phases de formation des kystes secondaires depuis les premières ésquisses de ségmentation du protoplasme jusqu'à la constitution des kystes.

Figs. 23 et 24. Kystes secondaires complètement constitués et isolés.

Syphilis in the adrenals

by

DR. C. BURLE DE FIGUEIREDO

(With plates 34–39).

Histopathological syphilitic lesions in the adrenals have latterly been the object of special researches and references in the litterature on this subject.

Of late, professor SIMMOND, of Hamburg, and ALDRED SCOTT, professor of Michigan University, the former in his research-work on congenital syphilis of the adrenals, the latter in the study of the effects of syphilis on the different organs, published more detailed observations modelled on previous researches, which had not until then led to a series of coordinated conclusions. SIMMOND (1) describing the characteristic lesions of congenital syphilis of the adrenals considers the thickening of the capsule, observed by him in all the 18 cases he studied, as the pathognomonic lesion. He calls this thickning «*perihypernephritis syphilitica*». Besides this he indicates the infiltrations of limphocytes in the cortex, which he does not consider as a primitive manifestation of the morbid process but as a the spreadnig of the process from the capsule.

In 1916, ALDRED SCOTT (2) published an article on «The persistence of active lesions and spirochetes in the tissues of clinically inactive or cured syphilis», quoting 6 cases of syphilitic lesions of the adrenals observed out of 41 autopsies. In the order of frequency as sites of this lesions he considers the adrenals to take the fourth place.

He gives the following order aorta, heart, testicle, adrenals, central nervous system, liver and spleen. In these he found infiltrations of mononuclear leucocytes in the medulla and in the limits between cortex and medulla with spiro-

1—Virchow's Archiv, 1914, Bd 216.

2—The American Journal of Medical Sciences, 1916, v. 125.

chetes in the infiltrated sites. Two years later, in 1918, he (3) returned to the subject, publishing an original article, under the title of «The new pathology of syphilis», with a page on the adrenals, the lesions of which he described with more detail illustrating them with a microphotograph in support of his previous views.

Identical observations had already been previously made not only by FORDYCE (4) who observe that all lymphatic lesions begin in the perivascular lymphatic spaces as infiltrations of lymphocytes and of plasma-cells, but also by VAN GIERKE who describes a case of infiltration of the medulla with perivascular infiltration, pronounced alteration of the cortex and inflammatory process of the capsule.

My own observations, which follow, were carried out in the Department for Pathological Anatomy of the Institute Oswaldo Cruz.

They refer to 90 autopsies on syphilitic subjects, whose diagnosis had been made not only by macroscopical but also by histological methods. Out of this number 75 showed adrenal lesions, specific in the acceptation of all the authors. The lesions found were as follows.

I) Infiltrations of limphocytes and plasma-cells 63 %, mostly perivascular, inside or outside the capsule, or less often in the cortex or dispersed in the organ.

II) Thickening of the capsule 31 %, with pericapsular infiltrations.

III) Limited fibroses 3,3 % (see note X).

We did not observe any cases of calcified gummata with giant-cells, atrophy of the capsule or simple proliferation of the fibroblasts, these the literature as rare. We were, however able to confirm SCOTT's observation of spirochetes in the zones of diffuse infiltration of lymphocytes as will be seen in Figs. 10 and 11 (from autopsy 1457, as also 5 and 6) reproducing, impregnated by LEVADITI's process, sections from one of the adrenals with the most extensive lesions.

As we could not dispose of clinical observations on the cases submitted to us for anatomo-pathological investigation we were unable to establish the connection betweed the lesions found and the clinical symptoms that might have been observed.

It is certain that in lesions of ani kind localised in the adrenals (Addison's disease), extensive bilateral lesions are very uncommon, and only rarely make thenselves felt by clinical symptoms. The cases found in the litterature on the subject reporting cures by specific antisyphilitic treatment are even more uncommon. And yet, according to my opinion, the histological verification of the lesions of syphilitic origin in the adrenals is not meely of anatomical interest but is also a valuable element for the pathological diagnosis of the disiase since it is by itself sufficient to

(3)—The American Journal of Syphilis, 1918.

(4)—Fordyce, Amer. Journ. of Med. Sciences, v. 149, 1915.

(x)—Besides the above mentioned syphilitic lesions I observed 20 capsules with adenomata, 19 with lipoidosis of the cortex 1 with tuberculosis 1 with malign tumour, 2 with haemorrhage, 11 with hyperaemia.

(x)—Virchow's Archiv. B. 172, 1903.

Beiträge zur Patholog. Anatomie und zur Allg. Pathologie Bd. 62, 1916.

Annales de Dermat. et de Syphiligraphie, 1905, 638, 212.

Annales des Maladies Vénériennes, 1911, 320.

Gazette des Ho. 1317, 1914.

New York Medical Journal 1916.

characterise it. Its undeniable value is enhanced by the frequency (83%) with which I observed it as a result of syphilis.

I will now proceed to the protocolls of each of my observations in which the histological confirmation of syphilis in the different organs and more specially the description of lesions of any kind of the adrenals will be found.

Autopsy nº. 1005
Sex: Male.
Age: 27 years.
Nationality: Brazilian.
Anatomical Diagnosis: Encephalitis syphilitica hemispherii sinistri. Cicatrix penis. Hyperaemia hepatis et partium inferiorum pulmonum. Perisplenitis et atrophia lienis. Varus equinus.
Histological verification of syphilis: Brain. Adrenals.
Adrenals: Thickening of the capsule.

Autopsy nº. 1011.
Sex: Male.
Age: 53 years.
Nationality: Portuguese.
Anatomical Diagnosis: Atrophia et dilatatio ventriculi et auriculae utriusque. Sclerosis valvulae aorticae. Leishmaniosis nasis. Cicatrix cutis mucosae nasi et penis. Leucoma. Petechiae intestini tenuis submucosae. Nephritis chronica. Ankylostomiasis. Aortitis. Syphilis.
Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Endocardium. Nose. Adrenals.
Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells in the innermost part of cortex. Perivascular infiltration. Thrombosis.

Autopsy nº. 1115.
Sex: Male.
Age: 32 years.
Nationality: Portuguese.
Anatomical Diagnosis: Mesaortitis luetica. Sclerosis valvularum aortae. Dilatatio ventriculi utriusque. Hypertrophia ventriculi dextri. Haemorrhagiae epicardii pleurae et nodorum peribronchialium. Infarctus pulmonis. Hydrothorax dexter. Hyperaemia renum et hepatis. Hyperplasia nod. lymph. intestini tenuis. Taenia. Leptomeningitis chronica luetica. Encephalomalacia.
Histological verification of syphilis: Aorta. Endocardium. Lymphatic glands. Brain. Adrenals.
Adrenals.: Perivascular infiltration of lymphocytes. Adenomata of capsule. Hyperaemia. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1123.
Sex: male.
Age: 64 years.
Nationality: Portuguese.
Anatomical Diagnosis: Encephalomalacia cystica cerebri. Mesaortitis luetica. Contraturae musculorum. Cicatrices cutaneae. Decubitus. Fibrosis testis dextri. Atrophia cordis. Nephritis chronica interstitialis. Hyperaemia et atrophia hepatis. Hypostasis et oedema pulmonis. Pleuritis et pericarditis chronica adhesiva. Cystitis chronica ulcerativa. Thrombosis sinus meningis.
Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Testicle. Brain. Adrenals.
Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells, unequally distributed, perivascular, internal layer of cortex. Connective tissue outside capsule. Thickening of capsule. Lipoidosis of capsule.

Autopsy nº. 1131.
Sex: Female.
Age: 30 years.
Nationality: Brazilian.
Anatomical Diagnosis: Salpingo-oophoritis purulenta acuta dupla. Perimetritis chronica. Peritonitis fibrino purulenta. Anaemia. Aortitis luetica (gumma). Pleuritis adhesiva chronica. Perisplenitis chronica. Degeneratio acuta hepatis et renum. Cicatrices cruris. Trichocephaliasis.
Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adranals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Slight perivascular fibrosis. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1132.
Sex: Male.
Age:
Nationality:

Anatomical Diagnosis: Malaria. Hyperplasia et pigmentatio lienis. Pigmentatio hepatis. Tuberculosis chronica peribronchialis pulmonum. Degeneratio renum. Sclerosis aortae (syphilis). Cicatrices cutanea, penis et cruris (syphilis). Alopoecia (syphilis). Ankylostomiasis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells, outside capsule and cortex. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1150.
Sex: Male.
Age: 32 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pneumonia cruposa. Bronchopneumonia. Mesaortitis syphilitica. Hepatomegalia. Splenomegalia. Ascites. Nephritis chronica parenchymatosa. Ankylostomiasis. Syphilis.

Histological verification of syphilis: Liver. Aorta. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1158.
Sex: Male.
Age: 43 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Fractura femoris. Osteomyelitis chronica suppurativa femoris. Nephritis acuta parenchymatosa. Enterocolitis acuta fibrinosa. Hyperaemia hepatis. Tumor (fibroma) peritonei. Lingua glabra. Hyperplasia lienis. Arteriosclerosis. Sclerosis arteriae lienis. Ankylostomiasis. Trichuriasis.

Histological verification of syphilis: Tongue. Kidneys. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1166.
Sex: Male.
Age: 70 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Mesaortitis syphilitica. Aneurysma aortae descendentis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Cicatrix myocardii et endocardii. Perisplenitis chronica. Emphysaema pulmonum. Fibrosis lienis. Atrophia renum. Nodulae intestini tenuis et crassi.

Histological verification of syphilis: Aorta (aneurysm). Endocardium. Myocardium.

Adrenals: Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1186.
Sex: Male.
Age: 43 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Endocarditis chronica et acuta destruens valvulae aortae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia et oedema pulmonum. Hydrothorax. Hepatitis chronica interstitialis. Hyperaemia et infarctus lienis. Cicatrices et infarctus, renum. Haemorrhagiae mucosae intestini et cutis. Cicatrix penis. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Liver. Penis. Adrenals.

Adrenals: Central, Perivascular infiltration of lymphocytes. Adenomata of capsule.

Autopsy nº. 1196.
Sex: Male.
Age: 30 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Aneurysma arcus aortae. Erosio tracheae. Aortitis syphilitica. Haemorrhagia et infarctus pulmonum. Hyperaemia lienis renum et meningium. Noduli jejuni. Synechiae

pleurae. Hyperaemia et infarctus hepatis.

Histologcial verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1203.
Sex: Male.
Age: 60 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Carcinoma ventriculi. Tuberculosis chronica fibrosa pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva. Lymphadenitis tuberculosa cervicalis, peritrachealis et peribronchialis. Tuberculosis glandularum suprarenalium. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Aortitis syphilitica. Atrophia fusca cordis. Sclerosis vasorum coronarium. Perisplenitis chronica. Gumma hepatis. Tuberculosis hepatis. Nephritis chronica interstitialis. Oedema meningium. Ulcera crurum.

Histological verification of syphilis: Skin. Aorta. Liver.

Autopsy nº. 1210.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Anaemia gravis. Ankylostomiasis degeneratio adiposa cordis. Dilatatio ventriculi utriusque. Oedema pulmonum. Hydrothorax duplus Tuberculosis circumscripta pulmonis et pleurae. Degeneratio adiposa renum. Hyperaemia hepatis degeneratio adiposa. Anaemia. cerebri et meningium. Oedema crurum. Medulla ossea adiposa. Perforatio saeptinasi. Cryptorchidismus unilateralis.

Histological verification of syphilis: Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes in the innermost part of cortex. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1217.
Sex: Male.
Age: 57 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi utriusque. Dilatatio ventriculi dextri. Fibrosis myocardii. Calcificatio valvularum aortae et mitralis. Calcificatio endocardii ventriculi sinistri. Atheroma aortae. Atrophia fusca hepatis. Fibrosis lienis. Perisplenitis chronica. Synechiae pericardii. Hydrothorax dextrus. Atelectasia pulmonis dextri. Cicatrices crurum. Hydroperitonæum. Petechiae epicardii et mucosae intestini. Gastritis hypertrophica. Ascariasis.

Autopsy nº. 1227.
Sex: Male.
Age: 36 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Aneurysma arcus aortae. Mesaortitis chronica (syphilis). Synechiae pericardii. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Hypertrophia ventriculi sinistri. Oedema, hyperaemia et atelectasia pulmonis sinistri. Oedema, hyperaemia et emphysaema pulmonis dextri. Hyperaemia chronica hepatis. Hyperplasia chronica lienis. Perisplenitis chronica. Degeneratio adiposa et hyperaemia renum. Hernia intestini tenuis in omentum minus. Hydroperitoneum. Hydrothorax sinister. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals.: Central Perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1246.
Sex: Male:
Age: 50 years.
Nationality: Italian.

Anatomcial Diagnosis: Syphilis. Nephritis interstitialis chronica. Hypertrophia et dilatatio ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri. Degeneratio adiposa myocardii. Aortitis levis. Oedema et hyperaemia pulmonis utriusque. Pneumonia crouposa lobi medii pulmonis dextri. Oedema meningium. Pleuritis chronica adhesiva. Hyperplasia et fibrosis lienis. Degeneratio parenchymatosa acuta et adi-

posa hepatis. Hydrothorax sinister. Ulcera crurum. Lymphadenitis chronica inguinalis et iliaca sinistra.

Histilogical verification of syphilis: Skin. Kidneys. Myocardium. Lymphatic glands. Adrenals

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1247.
Sex: Male:
Age: 48 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Syphilis Nephritis diffusa chronica. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Hypertrophia ventriculi sinistri. Myomalacia. Hydrothorax duplus. Oedema pulmonum. Atelectasia et hyperaemia lobi inferioris pulmonis sinistri. Lingua glabra. Pachymeningitis haemorrhagica interna sinistra. Encephalomalacia circumscripta. Hernia inguinalis dextra. Phymosis. Balanitis suppurativa. Ulcera cutanea. Degeneratio hepatis.

Histological verification of syphilis: Tongue. Skin. Kidneys. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule. Lipoidosis of capsule.

Autopsy nº. 1258.
Sex: Male:
Age: 36 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aneurysma arteriae coroniae anterioris. Arteritis syphilitica aortae et arteriae coronariae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio auriculae sinistrae. Balanitis ulcerativa. Cicatrices crurum. Hyperaemia chronica pulmonum, lienis, hepatis et renum. Necrosis mucosae intestini crassi Petechiae endocardii et mucosae gastricae. Pleuritis chronica dextra. Hydroperitoneum. Hydropericardium. Hydrothorax.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Penis. Intestine. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1263.
Sex: Male:
Age: 42 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Hypertrophia et dilatatio ventriculi utriusque. Pleuritis chronica dextra. Hyperaemia chronica hepatis, lienis et renum. Degeneratio adiposa hepatis et myocardii. Perisplenitis chronica. Prostatitis chronica. Hydroperitoneum. Hydrothorax dexter. Cicatrices crurum. Phymosis. Ulcus penis. Infarctus pulmonis dextri.

Histological verification of syphilis: Skin. Penis. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1276.
Sex: Male.
Age: 35 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Hepatitis chronica interstitialis (syphilitica). Hyperplasia lienis. Perisplenitis chronica. Hydroperitoneum. Fibrosis et atrophia myocardii. Fibrosis testis. Lymphadenitis chronica perigastrica, peripancreatica, lumbaris et hepatica. Fibrosis pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Icterus. Cicatrices crurum. Ankylostomiasis. Hyperaemia chronica renum. Anomalia arteriae coronariae sinistrae.

Histological verification of syphilis: Skin. Liver. Lymphatic glands. Testicles. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes in medulla and outside capsule. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1290.
Sex: Male.
Age: 23 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Malaria. Hy-

perplasia et pigmentatio lienis. Pigmentatio hepatis. Hyperaemia pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Gumma testis sinistri. Fibrosis testis dextri. Cicatrix penis. Decubitus. Cadaver putrefactum. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Penis. Testicle. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsules. Adenoma.

Autopsy nº. 1296.
Age: 30 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi utriusque. Dilatatio ventriculi sinistri. Oedema et emphysaema pulmonum. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Fibrosis myocardii. Atrophia fusca hepatis. Atrophia lienis. Fibrosis testis. Oedema, hyperaemia et petechiae mucosae intestini. Oedema levis meningium. Ankylostomiasis. Diverticulum intestini (Meckel). Anasarca. Cicatrices cutaneae. Papilloma renis.

Histological verification of syphilis: Kidney. Adrenal.

Adrenals.: Infiltration of lymphocytes in cortex.

Autopsy nº. 1305.
Sex: Male.
Age: 59 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Arteritis syphilitica. Aneurysma arcus aortae. Compressio pulmonis dextri, venae cavae superioris, oesophagi et tracheae. Infarctus, hyperaemia et oedema pulmonum. Erosio sterni. Pleuritis chronica adhesiva. Degeneratio adiposa et hyperaemia hepatis. Hyperaemia chronica lienis. Nephritis interstitialis chronica. Adenoma renis sinistri. Fibrosis glandulae prostatae.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1331.
Sex: Male.
Age: 28 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica. Aneurisma aortae thoracicae. Necrosis vertebrarum dorsalium et costarum, Compressio medullae spinalis. Pyonephritis. Cystitis pseudomembranosa. Emphysaema pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma cells. in cortex and medulla. Thrombosis. Hæmorhage. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1339.
Sex: Male.
Age: 23 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Syphilis Strictura urethrae. Dilatatio circumscripta urethrae et urethritis necrotica. Cystitis suppurativa et hypertrophia vesicae urinalis. Pyelitis chronica et hydronephrosis levis renis dextri. Nephritis interstitialis chronica thrombotica. Perisplenitis chronica et synechia (abscessus antiquus). Hyperplasia lienis. Degeneratio parenchymatosa, cicatrices et synechiae hepatis. Pancreatitis interstitialis chronica. Compressio capsulae suprarenalis sinistrae. Fibrosis testis. Periorchitis chronica. Vesiculitis seminalis chronica. Hyperaemia et oedema pulmonum. Hypertrophia ventriculi sinistri. Infiltratio adiposa myocardii. Leptomeningitis chronica. Lingua glabra. Lymphadenitis chronica lumbaris. Ulcus cruris. Cicatrices cutis. Cicatrix vulneris puncti abdominis.

Histological verification of syphilis: Skin. Lymphatic glands. Testicles. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of

lymphocytes in cortex and medulla. Slight thickening of capsule.

Autopsy nº. 1340.
Sex: Male.
Age: 50 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomialc Diagnosis: Malaria. Ankylostomiasis. Ileocolitis acuta serosa et ulcerativa incipiens. Peritonitis acuta suppurativa. Hydroperitoneum. Hepatitis interstitialis chronica. Hyperplasia lienis et perisplenitis chronica. Pigmentatio lienis et hepatis. Fibrosis testis dextri. Nephritis acuta parenchymatosa. Hydrothorax duplus. Hyperaemia. oedema et anthracosis pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Pericarditis chronica circumscripta. Sclerosis vavulae mitralis et aorticae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Arteriosclerosis. Cicatrix ulceris duodeni. Anaemia cerebri.

Histological verification of syphilis: Liver. Endocardium. Testicle. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1350.
Sex: Male.
Age: 43 years.
Nationality: German.

Anatomical Diagnosis: Oedema, hyperaemia et emphysaema pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Hydrothorax. dexter Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri Arteriosclerosis. Hyperplasia et hyperaemia capsulae suprarenalis utriusque. Hyperaemia chronica hepatis. Pyelitis sinistra. Cystitis catarrhalis. Atrophia circumscripta corticis cerebri. Atrophia cruris et brachii sinistri. Asymetria faciei. Encephalomalacia nuclei lenticularis et capsulae internae dextrae. Anomalia pulmonis sinistri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Brain. Adrenals.

Adrenals: Slight perivascular infiltration of lymphocytes hipoidosis of cortex. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1351.
Sex: Male.
Age: 57 years.
Nationality: Italian.

Anatomical Diagnosis: Mesaortitis chronica. Aneurysma arcus aortae. Bronchopneumonia, oedema et emphysaema pulmonis. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Perisplenitis chronica. Splenomalacia. Nephritis interstitialis chronica. Cholelithiasis. Hyperplasia nodularis et diffusa prostatae. Sclerosis arteriae basilaris. Cicatrix penis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1361.
Sex: Male.
Age: 34 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aneurisma aortae thoracicae in parte descendente. Mesaortitis. Atelectasia pulmonis sinistri. Bronchopneumonia tuberculosa. Pleuritis chronica adhesiva. Necrosis vertebrarum. Hyperaemia chronica passiva hepatis et renum. Atrophia lienis. Lymphodenitis mesaraica. Dilatatio ventriculi dextri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and some plasma-cells. Decided thickening of capsule.

Autopsy nº. 1362.
Sex: Male.
Age: 35 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis. Syphilis. Hepatitis interstitialis chronica. Hyperplasia lienis. Perisplenitis chronica. Nephritis parenchymatosa chronica. Hypertrophia ventriculi utriusque. Pleuritis chronica sinistra. Infiltratio adiposa myocardii. Oedema et hyperaemia pulmonum.

Necrosis saepti nasis et cicatrix alae nasis et glabelae. Colitis ulcerativa. Anasarca. Cicatrices crurum. Haemorrhagia capsulae suprarenalis sinistrae.

Histological verification of syphilis.: Skin. Liver. Nose. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Haemorrhage.

Autopsy nº. 1363.
Sex: Male.
Age: 53 years.
Nationality: Portuguése.

Anatomical Diagnosis: Pericarditis fibrino purulenta. Pleuritis fibrino purulenta sinistra. Atelectasia pulmonis sinistri Emphysaema marginalis pulmonis dextri. Oedema lobi superioris et medii pulmonis dextri. Oedema et hyperaemia lobi inferioris pulmonis dextri. Splenitis acuta. Hyperaemia chronica passiva et degeneratio adiposa hepatis. Dermatitis papulosa.

Histological verification of syphilis: Skin. Adrenals.

Adrenals: Slight central perivascular infiltration of lymphocytes. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1373.
Sex: Male.
Age: 60 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Atheroma aortae. Bronchopneumonia. Tuberculosis fibrosa pulmonis dextri. Oedema et hyperaemia pulmonum. Pleuritis chronica dextra. Hyperaemia hepatis et renum. Decubitus. Cicatrix penis. Cystitis pseudomembranosa. Proctitis. Diverticula sigmoidea (?).

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1374.
Sex: Male.
Age: 29 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Haemorrhagia cerebralis. Encephalomalacia capsulae internae, nuclei lenticularis et lobi frontalis dextri. Hyperaemia meningium, pulmonis dextri, renum, hepatis, lienis et capsularum suprarenalium. Bronchopneumonia sinistra. Pleuritis chronica sinistra. Hypertrophia ventriculi sinistri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Brain.

Adrenals: Adenoma of cortex. Hyperaemia. Lipoidosis (slight) of cortex.

Autopsy nº. 1383.
Sex: Male.
Age: 63 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Ulcus carcinomatosum ventriculi cum perforatione. Carcinoma metastatica in nodis mediastini posterioris, perigastricis et lumbaris. Peritonitis serofibrinosa. Arteriosclerosis et aortitis chronica (syphilis). Atrophia cordis, hepatis et lienis. Hyperaemia et oedema pulmonis dextri. Nephritis interstitialis chronica. Oedema meningium.

Histological verification of syphilis: Aorta. Penis. Kidneys. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells, central and outside capsule.

Autopsy nº. 1386.
Sex: Male.
Age: 21 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Tuberculosis miliaris acuta pulmonum, hepatis et lienis. Lymphadenitis tuberculosa mesaraica et mesocolica. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Pharyngitis ulcerativa. Laryngitis ulcerativa. Oesophagitis ulcerativa. Tracheitis ulcerativa. Syphilis. Cicatrix penis. Perisplenitis chronica. Perihepatitis chronica. Pleuritis adhesiva sub-acuta. Hypertrophia ventriculi utriusque. Aortitis. Clades saepti nasis. Ulcus

alae sinistrae. nasis (Leishmaniosis). Granuloma nasis (Leishmaniosis). Ulcus labii superioris (Leishmaniosis) Atrophia renum. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Larynx. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Thickening of capsules.

Autopsy nº. 1400.
Sex: Male.
Age: 90 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomcial Diagnosis: Ulcura et cicatrices syphilitica cutis, laryngis et tracheae. Exfoliatio epidermis. Aortitis chronica syphilitica. Hypertrophia et dilatatio ventriculi utriusque. Emphysaema et oedema pulmonum. Hyperaemia chronica hepatis et lienis. Cicatrices renum. Typhlitis ulcerativa. Oedema leptomeningium. Ankylostomiasis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Trachæa. Aorta. Skin. Larynx Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1416.
Sex: Male.
Age: 20 years.
Nationality: Brazilian.

Aanatomical Diagnosis: Emphysaema pleurae sinistrae. Pneumonia crouposa pulmonis sinistri. Bronchopneumonia pulmonis dextri. Gangraena circumscripta pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Hyperaemia hepatis. Perihepatitis chronica. Hyperplasia lienis. Hyperplasia lymphoidea intestini. Atheroma aortae. Cicatrices cutis. Vitiligo. Fibroma renis sinistri. Trichuriasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1428.
Sex: Male.
Age: 41 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Nephritis parenchymatosa chronica. Degeneratio adiposa myocardii. Degeneratio adiposa et atrophia levis hepatis. Oedema pulmonum. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Anaemia cerebri. Perisplenitis chronica. Diverticulum intestini (Meckel). Syphilis. Cicatrix penis. Oedema levis crurum. Ankylostomiasis. Lymphadenitis chronica inguinalis.

Histological verification of syphilis: Lymphotic glands. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes. Thickening of capsule. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1433.
Sex: Male.
Age: 63 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchoppneumonia sinistra. Pleuritis fibrinosa dextra. Pyothorax. Atelectasia pulmonis dextri. Bronchitis acuta catarrhalis. Aortitis syphilitica. Hypertrophia ventriculi utriusque. Hyperaemia et degeneratio adiposa hepatis. Degeneratio parenchymatosa renum. Ankylostomiasis, Ascariasis. Leucoplasia oesophagi.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of leucocytes and plasma.-cells in medulla, Fibrosis. Thickening of capsule. Hyperaemia. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1436.
Sex: Male.
Age: 28 years:
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pneumonia crouposa dextra. Oedema et hyperaemia pulmonis sinistri. Pleuritis adhesiva dextra. Mesaortitis syphilitica. Degeneratio adiposa hepatis. Nephritis acuta parenchymatosa. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia lienis. Ulcera oesophagi. Adenoma capsulae suprarenalis sinistrae. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Aorta.

Autopsy nº. 1457.
Sex: Male.
Age: 48 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Haemorrhagia. Aneurysma arcus aortae et aortae descendentis. Ruptura aneurismae in oesophagum. Pneumonia lobi inferioris pulmonis sinistri. Atelectasia lobi superioris pulmonis sinistri. Arteritis arteriarum carotidum. Perisplenitis chronica. Hyperaemia chronica hepatis.

Microscopically: Pneumonia syphilitica l. i. p. s. Adrenalitis syphilitica. Nephritis chronica diffusa.

Histological verification of syphilis: Aneurysm. Lung. Adrenals.

Adrenals: intense perivascular and diffused infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1463.
Sex: Male.
Age: 49 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomcial Diagnosis: Pneumonia crouposa dextra. Atelectasia pulmonis sinistri. Hepatitis chronica. Perihepatitis chronica. Peritonitis chronica Atrophia lienis. Perisplenitis chronica. Arteritis syphilitica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri Degeneratio parenchymatosa renum. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum.

Histological verification of syphilis: Aorta. Liver. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes in cortex, perivascular outside the capsule.

Autopsy nº. 1469.
Sex: Male.
Age; 26 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia ulcerativa tuberculosa dupla. Lymphadenitis tuberculosa peribronchialis et mesaraica. Pleuritis adhesiva chronica. dupla. Laryngitis ulcerativa syphilitica. Appendicitis tuberculosa. Enterocolitis ulcerativa tuberculosa. Cicatrix penis. Peritonitis tuberculosa circumscripta.

Histological verification of syphilis: Penis. Larynx. Adrenals.

Adrenals: Slight perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1470.
Sex: Male.
Age: 48 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Arteriosclerosis. Aortitis chronica syphilitica. Nephritis interstitialis chronica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri et auricularum. Sclerosis vasorum cerebri. Oedema, emphysaema et hyperaemia pulmonum. Hyperaemia passiva chronica hepatis. Petechiae ventriculi et pericardii. Hydrothorax duplus. Calcificatio glandulae thyreoidicae. Atrophia lienis. Ankylostomiasis. Dilatatio vesicae urinalis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and a few plasm-cells. Lipoidosis of cortex. Hyperaemia. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1479.
Sex: Male.
Age: 46 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis Stenosis et cicatrices recti. Colitis ulcerativa et polyposa. Perforatio coli sigmoidei. Varices venae haemorrhoidalis. Atrophia fusca myocardii. Tuberculosis apicum pulmonum. Atelectasia pulmonis sinistri. Emphysaema et oedema pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Perisplenitis chronica. Atrophia fusca hepatis. Hyperaemia passiva renum.

Histological verification of syphilis: Larynx. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1484.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis chronica syphilitica. Aneurisma aortae descendentis. Ruptura aneurismae in oesophagum. Haemorrhagia in ventriculum, intestinum tenue et in coecum. Arteritis et degeneratio adiposa arteriae anonymae et carotidis. Hyperplasia nodorum mesaraicorum. Oedema oesophagi. Calcificatio cartilaginium costalium. Cicatrices penis. Degeneratio adiposa hepatis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Penis. Lymphatic glands. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1494.
Sex: Male.
Age: 32 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aortitis syphilitica. Oedema pulmonum. Hypertrophia ventriculi sinistri. Degeneratio adiposa hepatis. Hyperaemia lienis. Hyperaemia renum. Ulcera crurum. Cicatrices penis. Cicatrices crurum.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Penis. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of plasma-cells in medulla. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1499.
Sex: Female.
Age: 50 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Cystis hepatis. Nephritis interstitialis chronica cum cystide. Cystis ovarii dextri. Adenoma glandulae thyroidicae. Degeneratio parenchymatosa hepatis. Cystis plexi choroidici sinistri. Aortitis chronica. Ventriculus bilocularis. Hyperplasia lymphoidea lienis. Haemorrhagiae lienis. Sclerosis vasorum basis cerebri. Fibrosis myocardii. Hypertrophia et dilatatio ventriculi sinistri. Laparatomia. Adipositas. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Myocardium. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells in cortex.

Autopsy nº. 1504.
Sex: Male.
Age: 24 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Nephritis diffusa acuta. Ulcus oesophagum gastricum. Colitis ulcerativa et haemorrhagica. Hyperaemia intestini tenuis. Degeneratio adiposa hepatis. Syphilis. Cicatrix penis. Bronchopneumonia haemorrhagica pulmonis dextri. Cicatrices inguino crurales. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Penis. Lymphatic glands.

Autopsy nº. 1505.
Sex: Male.
Age: 50 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica et aneurisma aortae abdominalis. Pneumonia lobi inferioris sinistri (syphilis). Atrophia cordis. Perisplenitis chronica. Anaemia renis sinistri. Atrophia hepatis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Lungs.

Autopsy nº. 1527.
Sex: Male.
Age: 34 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis Carcinoma ulcerativum ventriculi. Carcinoma metastaticum hepatis et nodorum subdiaphragmaticorum et peripancreaticorum. Cachexia. Aortitis chronica syphilitica. Clades nasis. Cicatrices penis. Atrophia fusca cordis. Oedema pulmonum. Hydrocele sinister. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Penis. Nose.

Autopsy nº. 1540.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Malaria Hyperplasia et pigmentatio lienis et hepatis. Pigmentatio paniculi adiposi cutis et pericardii. Pigmentatio pancreatis et serosae intestini. Icterus. Nephritis interstitialis chronica. Petechiae mucosae intestini. Pigmentatio mucosae ventriculi. Ulcera crurum. Hyperplasia corticis glandularum suprarenalium. Nodulae plexi choroidei.

Histological verification of syphilis: Adrenals.

Adrenals: Perivascular and diffused infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1545.
Sex: Male.
Age: 50 years.
Nationality:

Anatomical Diagnosis: Arteriosclerosis. Encephalomalacia. Nephritis interstitialis chronica (a. s.). Pneumonia crouposa loborum superioris et inferioris pulmonis dextri. Sclerosis vasorum basis cerebri. Hepatitis interstitialis chronica. Cholelithiasis. Perisplenitis chronica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Calcificatio valvularum aortae. Sclerosis vesicularum seminalium. Sclerosis testis dextri.

Histological verification of syphilis: Liver. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes with thickening of capsule.

Autopsy nº. 1557.
Sex: Male.
Age: 28 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Hyperaemia et hyperplasia chronica lienis. Malaria. Ankylostomiasis. Syphilis. Degeneratio parenchymatosa acuta renum. Hyperaemia chronica et degeneratio adiposa hepatis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia et oedema pulmonum. Dilatatio auriculae utriusque. Cicatrices cutis Hydrothorax duplus. Hydropericardium. Hydroperitoneum. Degeneratio adiposa aortae.

Histological verification of syphilis: Skin. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsules.

Autopsy nº. 1565.
Sex: Male.
Age: 21 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia dupla. Pleuritis fibrinopurulenta sinistra. Pleuritis serosa dextra. Splenitis acuta. Dilatatio ventriculi et auriculae dextraae. Nephritis parenchymatosa acuta. Infarctus renis. Hyperaemia meningium. Ulcera cruris sinistri. Cicatrices crurum et penis.

Histological verification of syphilis: Skin. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular of lymphocytes.

Autopsy nº. 1569.
Sex: Male.
Age: 63 years.
Nationality: Italian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica et arteriosclerosis. Nephritis interstitialis chronica. Anaemia. Ulcus faciei sinistrae. Atrophia fusca cordis. Atrophia hepatis. Atrophia capsularum suprarenalium. Perisplenitis chronica. Emphysaema pulmonum. Oedema loborum inferiorum pulmonis utriusque. Gastritis chronica. Oedema crurum. Phymosis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1572.
Sex: Male.
Age: 40 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis sy-

philitica. Aneurysma aortae ascendentis. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Oedema et emphysaema pulmonum. Hyperaemia passiva hepatis et lienis. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Oedema cutis. Cicatrix collis. Anasarca.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes. Thickening of capsules. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1581.
Sex: Male.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Tracheitis ulcerativa (syphilis). Oedema glottidis. Gumma pulmonis. Cicatrices hepatis (hepar lobatum). Fibrosis vesicularum seminalium. Lymphadenitis chronica inguinalis et subdiaphragmatica. Atheroma levis aortae. Nephritis interstitialis chronica et infarctus renum. Hyperplasia lienis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Emphysaema et oedema pulmonum.

Histological verification of syphilis: Trachæa. Aorta Liver. Lung. Lymphatic glands. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1588.
Sex: Male.
Age: 29 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Neoplasma pleurae dextrae. Pleuritis adhesiva chronica dextra. Hydrothorax dexter. Atelectasia pulmonis dextri. Oedema pulmonis sinistri. Hydroperitoneum. Haemopericardium., Petechiae peritonei. Degeneratio adiposa et hyperaemia chronica passiva hepatis. Infarctus lienis. Cicatrices cutis. Cicatrices penis. Ankylostomiasis. Decubitus.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Penis. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes. Adenoma of capsules.

Autopsy nº. 1589.
Sex: Male.
Age: 20 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pneumonia crouposa lobi inferioris pulmonis sinistri et bronchopneumonia lobi superioris pulmonis dextri. Pleuritis fibrinosa acuta et fibrosa chronica adhesiva sinistra. Hydrothorax duplus. Haemorrhagiae musculorum intercostalium. Splenomegalia. Nodulus perirenalis. Hyperostosis syphilitica tibiae sinistrae. Ulcus cubiti. Ulcus crurum. Cicatrices et pigmentatio cutis. Phymosis.

Histological verification of syphilis: Skin. Liver.

Adrenals: Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1591.
Sex: Male.
Age. 40 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia lobi inferioris et partis inferioris et superioris pulmonis sinistri. Oedema et hyperaemia lobi pulmonis dextri. Nephritis interstitialis levis et degeneratio parenchymatosa renum. Atrophia levis hepatis. Myelitis. Hyperaemia meningium et cerebri. Fibrosis lienis. Atrophia musculi sceleti. Ascariasis. Noduli plexorum choroidicorum. Cicatrix penis.

Histological verification of syphilis: Penis. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells. in cortex and medulla.

Autopsy n. 1600.
Sex: Female.
Age: 26 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Septicaemia Angiocolitis acuta. Hyperaemia pulmonum et renum. Uterus subinvolutus. Retentio placentae. Endometritis acuta.

Histological verification of syphilis: Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1616.
Sex: Male.
Age: 49 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia tuberculosa dextra. Pleuritis tuberculosa chronica dextra cum calcificatione. Oedema et hyperaemia pulmonum. Hepatitis chronica. Perihepatitis chronica circumscripta. Perisplenitis chronica. Gastritis chronica catarrhalis.

Histological verification of syphilis. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and in cortex.

Autopsy nº. 1620.
Sex: Male.
Age: 19 years.
Nationality:

Anatomical Diagnosis: Pleuritis fibrinopurulenta dupla. Mediastinitis fibrinopurulenta. Endocarditis acuta mitralis. Nephritis parenchymatosa subacuta. Hyperplasia levis nodorum retroperitonealium. Splenomegalia (17 + 10 + 4,5) (syphilis). Perisplenitis chronica. Perihepatitis chronica. Fibrosis hepatis (Syphilis). Haemorrhagia et hyperaemia suprarenalium.

Histological verification of syphilis: Liver. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells outside capsule. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1621.
Sex: Male.
Age: 30 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Peritonitis fibrino-purulenta. Degeneratio adiposa hepatis. Hyperaemia et oedema pulmonum. Degeneratio parenchymatosa renum. Pancreatitis chronica interstitialis (interlobularis et intralobularis). Anaemia. Amputatio femoris sinistri. Cicatrices cruris dextri. Pleuritis chronica adhesiva dextra.

Histological verification of syphilis: Pancreas. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells, perivascular and in whole capsule.

Autopsy nº. 1622.
Sex: Female.
Age: 19 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Pacchymeningitis haemorrhagica interna. Hypostasis pulmonum et bronchitis acuta. Infarctus pulmonum. Lymphadenitis tuberculosa peritrachialis. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Oedema leptomeningium. Arteriosclerosis. incipiens. Cicatrices cutis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1625.
Age: 62 years.
Sex: Female.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aortitis syphilitica. Nephritis interstitialis chronica.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes in cortex.

Autopsy nº. 1630.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Arteriosclerosis. Aortitis chronica syphilitica. Ulcus tuberculosum intestini tenuis. Dilatatio oesophagi et synechiae nodorum. Calcificatio nodorum peribronchialium.

Bronchopneumonia loborum inferiorum pulmonum. Oedema et hyperaemia pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Degeneratio adiposa myocardii et hepatis. Atrophia lienis. Oedema leptomeningium. Hydrocele dexter. Nephritis parenchymatosa levis acuta Cicatrices crurum. Fibrosis testis.

Histologialc verification of syphilis: Aorta. Skin. Testicle.

Autopsy nº. 1633.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Tuberculosis ulcerativa et peribronchialis. lobi superioris sinistri. Oedema et hyperaemia pulmonum. Lymphadenitis tuberculosa peritrachealis. Hydrothorax sinister. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Tuberculosis ulcerativa tracheae. Dilatatio universalis cordis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Enterocolitis tuberculosa ulcerativa. Hyperaemia lienis. Hyperaemia et degene ratio adiposa hepatis. Nephritis parenchymatosa chronica. Adenoma capsulae adrenalis dextrae. Fibrosis testis dextri. Hyperplasia nodorum inguinalium. Cicatrices cutis.

Histological verification of syphilis: Skin. Testicle and lymphatic glands.
Adrenals: Tuberculosis.

Autopsy nº. 1634.
Sex: Male.
Age: 64 years.
Nationality: Italian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis pulmonum. Nephritis interstitialis chronica. Degeneratio adiposa hepatis. Oedema pulmonum. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Oedema subcutaneum. Vesiculitis seminalis chronica.

Histological verification of syphilis: Lung. Myocardium. Adrenals.
Adrenals: Dispersed and perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1637.
Sex: Male.
Age: 23 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Leptomeningitis suppurativa acuta. Hyperaemia nodulorum Peyeri. Haemorrhagia capsulae suprarenalis dextrae. Tuberculosis peribronchialis pulmonis dextri. Lymphadenitis tracheobronchialis. Aortitis syphilitica. Exanthema. Petechiae pericardii et mucosae vesicae urinalis. Ascariasis. Trichuriasis. Cystis peritrachealis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.
Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Haemorrhage. Infarct.

Autopsy nº. 1645.
Sex: Male.
Age: 33 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Tuberculosis miliaris et ulcerativa pulmonum. Meningitis tuberculosa. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Aortitis syphilitica. Hyperaemia hepatis, lienis et renum. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Tuberculosis prostatae. Colitis ulcerativa. Varices recti. Ankylostomiasis. Trichuriasis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Muscles.

Autopsy nº. 1654.
Sex: Male.
Age: 36 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Septicemia. Syphilis gravis. Perihepatitis et perisplenitis chronica. Gummata hepatis et lienis. Hyperplasia lienis. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Hyperaemia hepatis, lienis et renum. Hepatitis interstitialis chronica sporadica. Colitis catarrhalis. Cicatrix epiglottidis. Fibrosis testis sinistri. Gastritis catarrhalis. Hyperaemia pulmonum. Cicatrices crurum.

Histological verification of syphilis: Skin. Liver. Testicles. Adrenals.

Adrenals: Disseminated infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1655.
Sex: Male.
Age: 26 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia dextra. Pleuritis fibrinosa dextra. Pleuritis adhesiva chronica dupla. Pericarditis acuta fibrinopurulenta. Laryngitis pseudomembranosa (Diphteria). Tracheotomia. Hyperplasia lienis. Perisplenitis et perihepatitis chronica. Hepatitis intrsetitialis chronica et cicatrices. Pericholangitis chronica. Colitis follicularis. Gastritis haemorrhagica. Petechiae istestini tenuis. Lymphadenitis tuberculosa peribronchialis et peritrachealis. Oedema epiglottidis. Medulla ossea rubra. Ascariasis. Ankylostomiasis. Nephritis diffusa acuta. Hyperplasia glandularum suprarenalium. Cicatrices crurum. Syphilis. Hydrocele dupla. Lymphadenitis chronica mesaraica. Schistosomiasis.

N. B.--This appears to be a case of BANTI's disease. Death due to diphtheria.

Histological verification of syphilis: Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltraiotn of lymphocytes and plasma-cells. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1662.
Sex: Male.
Age: 62 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia confluens lobi inferioris dextri. Tuberculosis ulcerativa chronica et fibrosis lobi superioris pulmonis dextri. Pneumonia syphilitica. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Hyperaemia cerebri. Lymphadenitis acuta peribronchialis. Nephritis interstitialis chronica. Atrophia fusca cordis. Atrophia hepatis et perihepatitis chronica (levis). Hepatitis interstitialis (syphilis). Atrophia et fibrosis lienis. Arteriosclerosis. Gastritis chronica atrophica. Enteritis haemorrhagica acuta. Fibrosis testis. Hypertrophia prostatae.

Histological verification of syphilis: Lung. Testicle.

Adrenals: Intracapsular lymphatic glands. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1668.
Sex: Male.
Age: 70 years.
Nationality: British.

Anatomical Diagnosis: Leptomeningitis suppurativa acuta (meningococcus). Nephritis interstitialis chronica. Arteriosclerosis. Aortitis chronica cyphilitica Splenitis acuta. Tuberculosis fibrocaseosa apicis pulmonis dextri. Hyperaemia pulmonum Petechiae epicardii et mucosae vesicae urinalis. Fibrosis et atrophia testis dextri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Testicle. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasmocytes. Hyperaemia.

Autopsy n. 1670.
Sex: Male.
Age: 26 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Otitis media suppurativa. Bronchopneumonia confluens lobi inferioris pulmonis sinistri. Pleuritis fibrinosa acuta sinistra. Lymphadenitis acuta peribronchialis. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Hydroperitoneum. Hyperaemia chronica et degeneratio hepatis. Degeneratio et cicatrices renum. Splenitis acuta. Aortitis syphilitica. Gastritis subacuta. Ulcera cruris. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin.

Autopsy nº. 1671.
Sex: Female.
Age: 24 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Ankylostomiasis. Degeneratio acuta renum. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Hydropericardium. Endocarditis acuta vegetativa mitralis (levis). Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Anomalia cordis. Oedema pulmonum. Anaemia. Splenomegalia et cicatrices lienis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1677.
Sex: Male.
Age: 40 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica. Endocarditis chronica valvulae aorticae. Hypertrophia et dilatatio universalis cordis. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Pleuritis fibrosa chronica dextra. Tuberculosis fibrosa chronica lobi superioris pulmonis dextri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Endocardium. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1679.
Sex: Male.
Age: 41 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica. Dilatatio universalis cordis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperplasia, hyperaemia et pigmentatio lienis. Hyperaemia chronica renum. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Hydrothorax dexter. Emphysaema pulmonum. Hyperaemia meningium. Haemorrhagia subpleuralis dextri. Gastritis ulcerativa. Ankylostomiasis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Kidneys. Lungs. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells perivascular and of medulla. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1681.
Sex: Female.
Age: 35 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica et aneurisma arcus aortae. Dilatatio et hypertrophia ventriculi sinistri. Endocarditis chronica aortae. Obliteratio orificii arteriae coronariae dextrae. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Hyperaemia et oedema pulmonis utriusque. Atelectasia lobi inferioris pulmonis sinistri. Hyperaemia renum. Hyperaemia chronica passiva et degeneratio hepatis. Pleuritis fibrosa chronica adhesiva dupla. Cicatrices colli uteri. Ankylostomiasis. Cadaver putrefactum.

Histological verification of syphilis: Aneurysm. Endocardium. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Adenoma of capsule. Lipoidosis.

Autopsy nº. 1683.
Sex: Male.
Age: 39 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aortitis syphilitica. Lymphadenitis universalis. Tuberculosis circumscripta pulmonis sinistri. Pleuritis adhesiva chronica dupla. Hyperaemia pulmonum, hepatis, lienis, renum et cerebri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes. Slight thickening of capsules. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1684.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomcial Diagnosis: Tuberculosis ulcerativa pulmonis. Tuberculosis miliaris peribronchialis. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Arteriosclerosis. Degeneratio adiposa hepatis Hernia directa inguinalis dextra.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of

lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1685.
Sex: Female.
Age: 25 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Cicatrix et stenosis pylori. Lymphadenitis suppurativa peripancreatica, mesenterica et preaortica. Cicatrices tuberculosae ilei. Tuberculosis fibrocaseosa circumscripta pulmonis dextri. Degeneratio adiposa myocardii. Aortitis syphilitica. Degeneratio adiposa hepatis. Degeneratio parenchymatosa renum. Oophoritis tuberculosa. Cicatrices cutaneae inguinocrurales. Cachexia. Myocarditis syphilitica.

Histological verification of syphilis: Myocardium. Aorta. Lymphatic glands. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Adenoma. Considerable thickening of capsule.

Autopsy nº. 1687.
Sex: Male
Age:
Nationality:

Anatomical Diagnosis: Peritonitis suppurativa acuta. Salpingitis, endometritis, myometritis suppurativa. Lymphadenitis tracheobronchialis tuberculosa. Aortitis syphilitica. Pleuritis adhesiva dextra. Cadaver putrefactum.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1688.
Sex: Female.
Age: 29 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pyodermatitis faciei. Abscessus pulmonum. Pleuritis fibrinosa acuta. Arteritis syphilitica incipiens. Hyperplasia et hyperaemia lienis. Hyperaemia hepatis et renum. Decubitus. Pigmentatio circumscripta crurum. Ascariasis. Trichuriasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Slight infiltration of lymphocytes in cortex. Thickening of the capsule.

Autopsy nº. 1689.
Sex: Female.
Age: 49 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Morbus Reynaudi). Bronchopneumonia loborum inferioris et medii pulmonis dextri. Pleuritis serofibrinosa sinistra. Pleuritis adhesiva subacuta dextra. Pericarditis serofibrinosa levis. Hypertrophia ventriculi utriusque cordis. Atrophia flava hepatis. Nephritis interstitialis chronica. Arteriosclerosis. Gangraena digitorum manus sinistrae. Clades digitorum manus dextrae. Gangraena digitorum pedis dextri. Sclerosis levis vasorum basis cerebri. Oedema leptomeningium. Endarteritis obliterans syphilitica membrorum.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1691.
Sex: Male.
Age: 48 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Epithelioma bronchi. Epithelioma metastaticum pulmonis, nodorum mediastinorum, oesophagi, hepatis et glandulae suprarenalis. Pneumonia crouposa. Pleuritis fibrinosa acuta sinistra. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Emphysaema pulmonis dextri. Splenitis acuta. Nephritis parenchymatosa acuta. Aortitis chronica syphilitica. Hydrocele dupla. Hernia inguinalis directa.

Microscopicamente foram encontrados fócos do tumor no myocardio.

Histological verification of syphilis: Aorta.,

Adrenals: Adenomata of capsules. Carcinomes.

Autopsy nº. 1692.
Sex: Male.
Age: 50 years.
Nationality: Spanish.

Anatomical Diagnosis: Malaria. Oedema pulmonum. **Degeneratio parenchymatosa renum. Pigmentatio hepatis et lienis. Splenitis acuta. Arteriosclerosis. Icterus. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Aortitis chronica syphilitica. Tuberculosis fibrocaseosa pulmonis.**

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular and disseminated infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1700.
Sex: Male.
Age: 28 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pneumonia crouposa dextra. **Tuberculosis fibrocaseosa pulmonis dextri. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Aortitis chronica syphilitica. Degeneratio adiposa myocardii. Degeneratio adiposa et tuberculosis miliaris hepatis. Nephritis parenchymatosa. Splenitis acuta. Anaemia. Anasarca. Cicatrix penis. Ankylostomiasis.**

Microscopic examination: infiltration of lymphocytes in adrenal, capsule.

Histological verification of syphilis: Penis. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes perivascular and in medulla.

Fig. 1

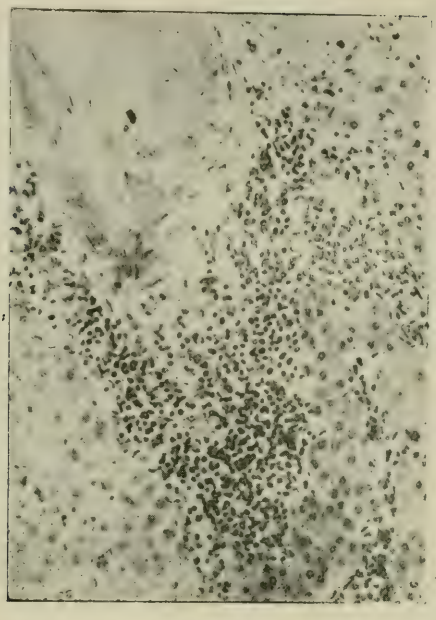


Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

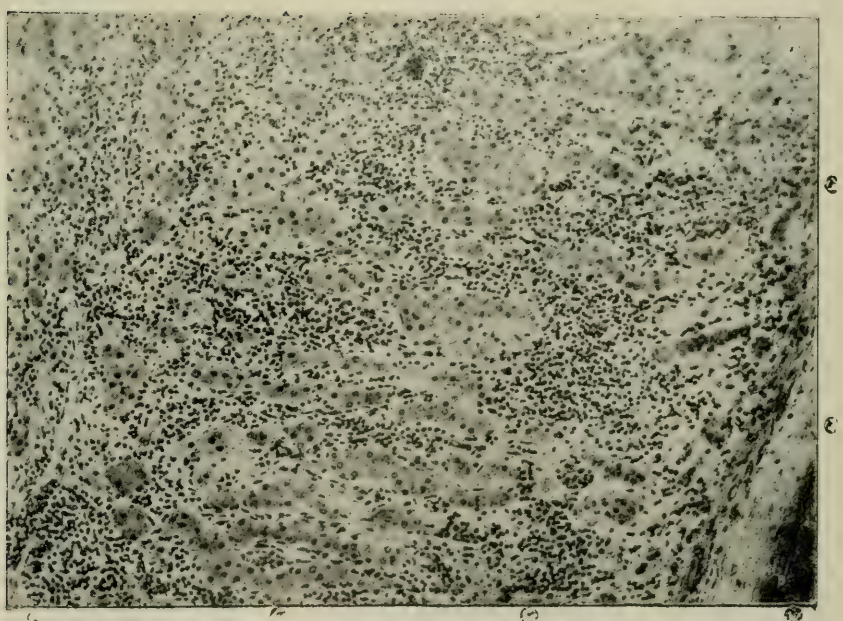


Fig. 5

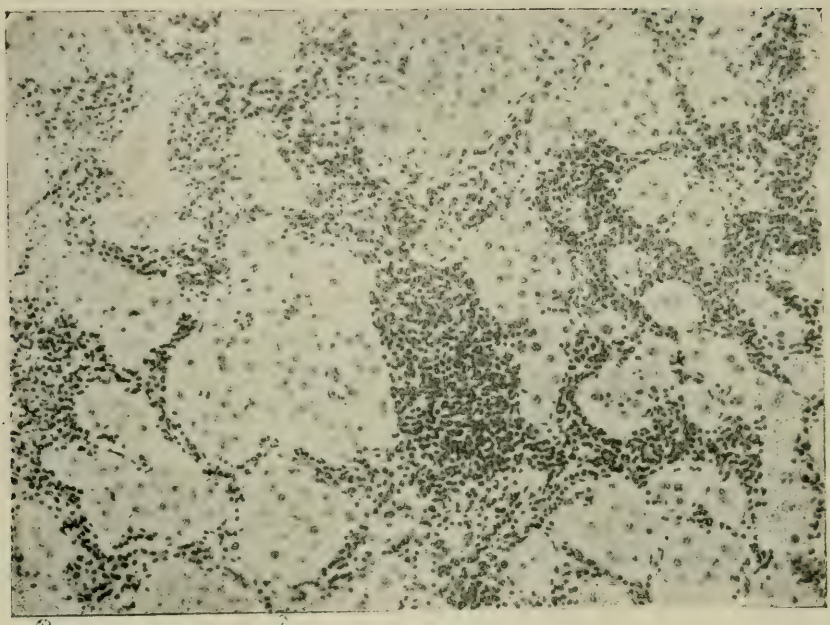


Fig. 6

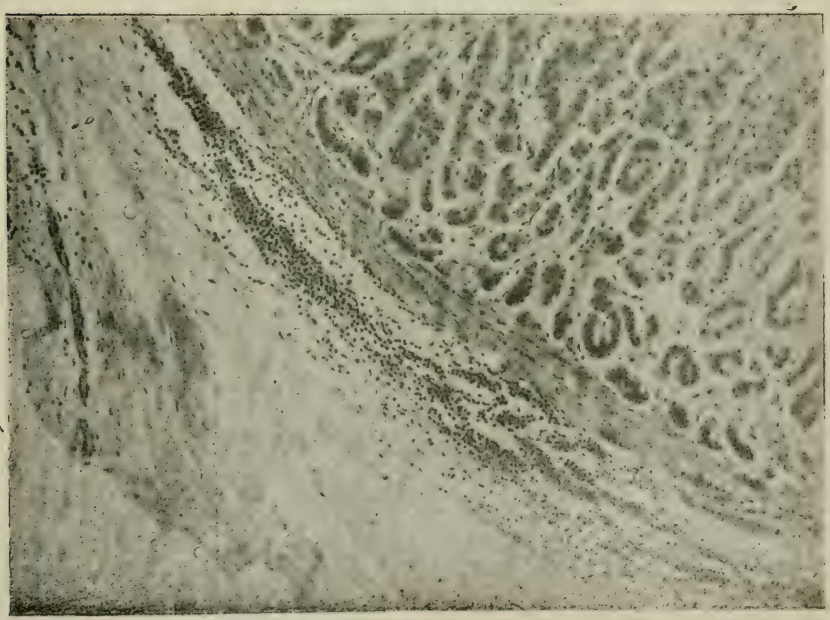


Fig. 7

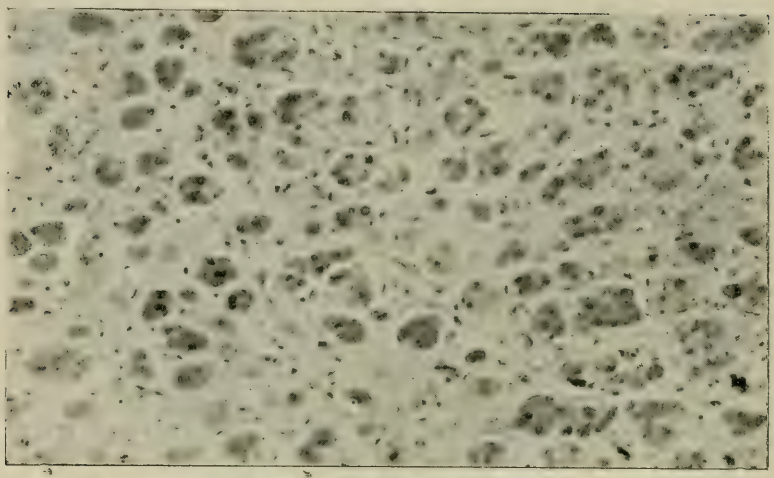


Fig. 8

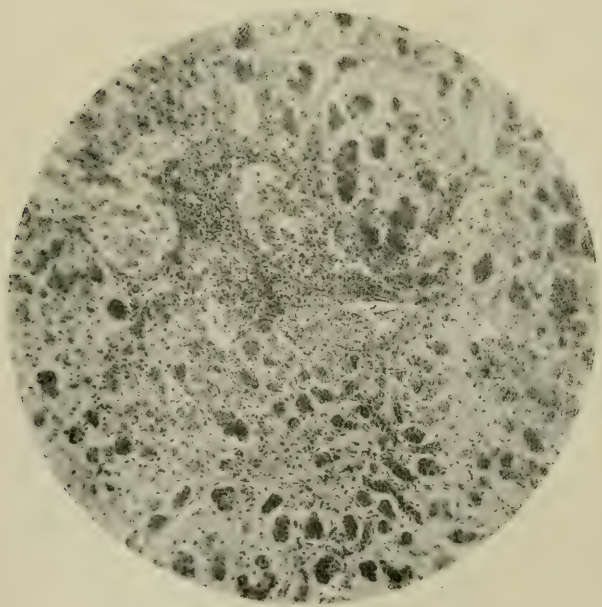


Fig. 9

Fig. 10

Fig. 11

Anno 1922

Tomo XV

Faciculo 1

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

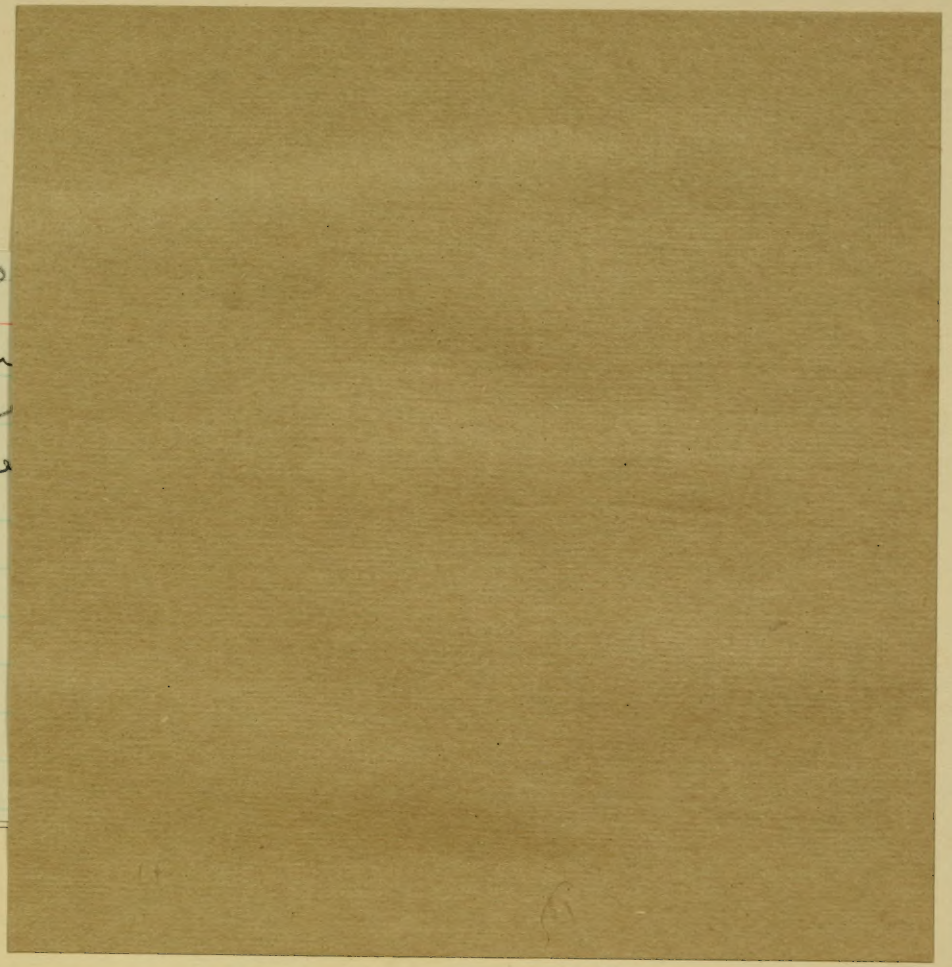
Rio de Janeiro - Manguinhos

Memorias do Instituto

JAN 2 1940 Bassler

NOV 17 1965 Roz

DEC 7 1965 Roz



AMNH LIBRARY
100135999